UNTERSUCHUNGEN ZUR KONSTITUTION DER DIGITENOL-GLYKOSIDE

von

GÜNTHER MÜLLER

Hamburg 1961

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41548107_0046

UNTERSUCHUNGEN ZUR KONSTITUTION
der
D I G I T E N O L - G L Y K O S I D E

Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades
der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Universität Hamburg

vorgelegt von
Günther Müller
aus Hagen i/W.

Hamburg
1 9 6 1

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Genehmigt von der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät der Universität Hamburg auf Antrag von Herrn Professor Dr. R. Tschesche.

Hamburg, den 10. 6. 1961 Der Dekan Kolbwig

Fotodruck: Mikrokopie G.m.b.H. München 2, Weinstr. 4

Die vorliegende Arbeit wurde in der Zeit vom September 1958 bis zum August 1960 in der Biochemischen Abteilung des Chemischen Staatsinstitutes der Universität Hamburg ausgeführt.

Meinem sehr verehrten Lehrer
Herrn Professor Dr. Rudolf Tschesche
sage ich für die Problemstellung meinen herzlichen Dank. Ohne seine zahlreichen Anregungen und Unterstützung wäre die Durchführung dieser Arbeit nicht möglich gewesen.

Inhaltsverzeichnis

	Seite
I. Einleitung	
A. Allgemeines über bisherige Arbeiten an Digitanolen	6
B. Aufgabenstellung	8
II. Hauptteil / III. Experimenteller Teil	
Allgemeines, Abkürzungen	46
A. Isolierung der Digitanol-glykoside	9
1. Aufarbeitung von Verodigen-Chargen AKI	9/48
2. Isolierung von Glykosid B	10/48
B. Eigenschaften des Glykosids B	12
C. Untersuchungen zur Konstitution des Digifoleins	
1. Zur Doppelbindung	13
a) Einwirkung von Ozon	13/51
b) Behandlung mit Osmiumtetroxyd	13/51
c) Die Witter-Stone-Reaktion	13
d) Die Jodzahlbestimmung	13
2. Zur Aldehydgruppe	14
a) Aufnahme des IR-Spektrums mit Calciumfluoridprisma	14
b) Versuch der Autoxydation von Digifolein	15/52
Versuch der Autoxydation von Dianhydro-strophanthidin	51
Darstellung von Dianhydro-strophanthidin	51
3. Die Reduktionsprodukte des Digifoleins	15
a) Katalytische Reduktion in Methanol zu Dihydro-digifolein	15/52
b) Reduktion mit Aluminiumamalgam zu al-Hydro-digifolein	16/53

Seite

c) Katalytische Reduktion in Eisessig 16/53

d) Katalytische Reduktion von Dihydro-digifolein in Eisessig 17/54

e) Katalytische Reduktion von al-Hydro-digifolein in Methanol 17/55

f) Katalytische Reduktion von al-Hydro-digifolein in Eisessig 17/55

g) Katalytische Reduktion in Dioxan bei verschiedenen Temperaturen 17/56

h) Reduktion des Dihydro-digifoleins mit Aluminiumamalgam 18/57

i) Andere Hydrierungsversuche 18/57

4. Behandlung von Digifolein mit Dowex 50 18

a) Einwirkung in Methanol und Dioxan 19

b) Einwirkung in Aceton 19/58

c) Nebenprodukte bei der Einwirkung in Aceton 20/59

d) Einwirkung in wässrigem Aceton 21/59

e) Einwirkung auf Lanafolein 21/59

5. Einwirkung von starken Säuren und Laugen 21

a) Einwirkung von Säure auf Digifolein 21/59

b) Einwirkung von Kalilauge auf Digifolein 22/60

c) Einwirkung von Salzsäure auf Digifologenin-acetonid 22/60

d) Einwirkung von Kalilauge auf Digifologenin-acetonid 22/60

e) Einwirkung von Schwefelsäure auf Digifologenin-acetonid 22/61

6. Versuche zur Bildung eines Halbacetals 23/61

7. Versuche zur Abspaltung von Wasser 23/62

8. Versuche zur Darstellung von Digifolein-acetat 24/62

D. Diskussion der Ergebnisse 24

Zusammenfassung 44

Literaturübersicht 63

I. E I N L E I T U N G.

A. Allgemeines über bisherige Arbeiten an Digitanolen.

Seit einigen Jahren wird an diesem Institut und an anderer Stelle über die Isolierung und Konstitution einer Verbindungsklasse gearbeitet, die als Glykoside und teilweise als Genine aus verschiedenen Digitalisarten gewonnen worden ist. Sie wurden unter dem Namen Digitanolglykoside zusammengefaßt 1), und haben gemeinsam, daß alle ihre Aglykone 21 Kohlenstoffatome enthalten.

Ein Teil dieser Digitanolglykoside zeichnet sich dadurch aus, daß eines seiner Sauerstoffatome nicht direkt durch chemische Reaktion nachgewiesen werden kann. Infolgedessen wurde schon von SHOPPEE 2) dafür ein Ätherring angenommen (Ia,S.7), dessen Verknüpfungsstelle mit dem Steroidgerüst von TSCHESCHE und Buschauer 1) aus theoretischen Überlegungen an C-14 verlegt worden ist.

Bei dieser Stoffgruppe läuft fernerhin das Vorhandensein einer Δ 5,6-Doppelbindung parallel, weshalb ihr auch die Bezeichnung " Digitenole " zukommt 1).

Von den Digitenolen stehen in nennenswerter Menge nur solche zur Verfügung, die in ihrem chemischen Verhalten die sehr unangenehme Charakteristik zeigen, daß schon die genuinen Verbindungen in Lösung unbeständig sind und in Chloroform gelöst, durch dessen geringe Acidität gar in wenigen Tagen unübersehbare und nicht zu reproduzierende Umsetzungen erleiden 3).

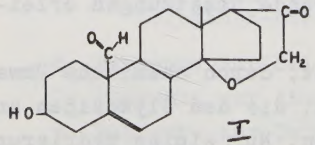
Es gelang bisher auch noch nicht, durch chemische Umwandlung zu Reaktionsprodukten zu kommen, die den Glykosiden an Beständigkeit überlegen gewesen wären. Nur einige Hydrierungsprodukte 3)4) zeigten in kristalliner Form keine Tendenz zur Zersetzung, jedoch boten deren Genine keinen Vorteil in dieser Beziehung gegenüber dem Ausgangsmaterial.

Ohne die Veränderung oder Entfernung der reaktionsfähigen Zentren des Moleküls ist es aber nicht möglich, einen konstitutionsklärenden Abbau oder eine Verknüpfung mit Verbindungen bekannten Aufbaus durchzuführen.

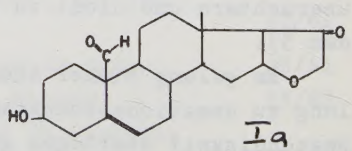
SHOPPEE 5) berichtet über eine gelungene Verknüpfung dieser Art beim Diginigenin, das selbst unter sehr drastischen Bedingungen noch zu wohl definierten und kristallinen Produkten führte und bei 200° im Hochvakuum destillierbar war. Diginin wäre also der ideale Vertreter für die weitere Erforschung der Digitenole, weshalb auch schon seit Jahren seine Anreicherung aus den Drogen angestrebt worden ist.

Dabei dienten authentische Präparate als Vergleichssubstanz, deren Hauptbestandteil mit einem Glykosid identisch ist, das an diesem Institut unter der Arbeitsbezeichnung " Glykosid A " behandelt worden war 6). Es mußte auf Grund der Vergleichspräparate für Diginin gehalten werden. Alle Versuche aber, aus diesem Glykosid ein kristallines oder gar beständiges Genin zu erhalten, schlugen fehl 6), so daß nicht daran gedacht werden konnte, die Arbeiten von Shoppee zu bestätigen und auszubauen. Auch als von Shoppee freundlicherweise eine größere Menge der Vergleichssubstanz für präparative Zwecke zur Verfügung gestellt wurde, ergab das kein positives Resultat 6). Inzwischen ist auch aus privaten Mitteilungen von Shoppee zu entnehmen, daß er selbst beim Versuch, mit dem gleichen Material an frühere Arbeiten anzuschließen, dieselbe Enttäuschung erlitten hat.

Eine Reihe von experimentellen Befunden führte zu dem Formelvorschlag I für die Digitenole:



I



Ia

Der Ursprung und die physikalischen Daten von Digifolein, Lanafolein und Diginin gleichen sich in solchem Maße, daß sie der gleichen Stoffklasse zugerechnet werden müssen 1). Das Kohlenstoffgerüst konnte als Steroidderivat nachgewiesen werden, da SHOPPEE 5) die Überführung in Diginan gelang, das von anderer Seite synthetisch aufgebaut wurde 7).

Für die Sauerstoffunktionen ergaben sich aus IR- und UV-Spektren zwei Carbonylgruppen, von denen wahrscheinlich gemacht wurde, daß es sich um ein 6-Ring-Keton und um eine Aldehydgruppierung an C-10 handelt 1).

Die Lage von zwei Hydroxylgruppen im Digifologenin bewiesen TSCHESCHE und Lipp 8) durch die Bildung eines Acetonids.

Es verblieb noch das letzte, schon erwähnte Sauerstoffatom, das sich nur in einem cyclischen Äther unterbringen ließ.

Die Doppelbindung gibt sich durch eine positive Tetranitromethan-Reaktion zu erkennen.

B. Aufgabenstellung.

Es ergab sich die Notwendigkeit, die vorgeschlagene Formel (I) durch weitere Untersuchungen zu stützen, oder aber durch eine andere zu ersetzen, mit der man in der Lage wäre, alle gefundenen Ergebnisse zu erklären.

Die Untersuchungen sollten aus Gründen der leichteren Beschaffbarkeit an Digifolein durchgeführt werden. Hierzu stand das früher 3) schon benutzte Verodigen AKI der Firma Boehringer & Söhne zur Verfügung.

Es wurde angestrebt, aus den Drogen auch die anderen darin enthaltenen Glykoside möglichst weitgehend zu isolieren oder zumindest zu erhalten. Ein besonderes Augenmerk galt der Gewinnung neuer C-21-Glykoside.

II. H A U P T T E I L.

A. Isolierung der Digitanolglykoside.

Es bestätigte sich, daß der Gehalt der Drogen an den einzelnen Glykosiden sehr schwankt, und zwar in einem Maße, daß an einer bestimmten Charge ausgearbeitete Aufbereitungsmethoden an anderen Chargen nicht zu optimalem Erfolg zu führen brauchen, selbst, wenn diese die gleiche Bezeichnung tragen.

Unter Umständen kann es zu unangenehmen Überraschungen kommen. Das war einmal der Fall, als einige Gramm Kristalle erhalten worden waren, die nach den bekannten Isolierungsmethoden, Spektren und Papierchromatogrammen, nach Schmelzpunkt und Drehung reines Digifolein sein mußten. Als damit aber größere Ansätze zu Reaktionen gemacht wurden, die vorher im Mikromaßstab gesichert worden waren, verliefen sie alle anders und führten durch die Mannigfaltigkeit der erhaltenen Produkte zum Verlust der Substanz. Es zeigte sich dann fast zufällig, daß die isolierten Kristalle aus zwei sehr ähnlichen Verbindungen bestanden, was anschließend das Auffinden eines bis dahin unbekannten C-21-Glykosids ermöglichte.

Wegen der immer wieder erforderlichen Einstellung der Aufbereitungsmethodik auf die jeweilige Droge, seien hier nur zwei Verfahren beschrieben, die gegenüber den bisherigen eine Verbesserung darstellen und allgemeiner Anwendung fähig scheinen.

1. Aufarbeitung von Verodigen-Charge AKI.

Man kann aus der Droge von vornherein eine Abscheidung von ca. 30% Digitoxin und Gitoxin erreichen, wenn man sie in geeigneter Weise in Essigester löst. Es fällt nach kurzem Stehen ein Niederschlag aus, der höchstens noch Spuren anderer Glykoside enthält. Will man schnell und mit möglichst geringem Materialaufwand zum Digifolein gelangen, so zieht man die eingeengte Mutterlauge auf etwa die vierfache Menge ungesiebten Aluminiumoxyds auf und läßt nach Abziehen des Lösungsmittels im Vakuum einige Stunden mit Essigester und 3 bis 5% Me-

thanol stehen. Durch Absaugen und Eindampfen erhält man einen Rückstand, der noch aus etwa 30% der eingesetzten Menge Verodigens besteht. Löst man diesen in Methanol, gibt die gleiche Menge Äther und dann Wasser zu, so kann man die wässrig-methanolische mit der ätherischen Phase extrahieren, bis die abfließende Lösung gerade farblos ist und erreicht damit das Verbleiben des Digifoleins in der schweren Phase, während die leichte Phase papierchromatographisch frei davon ist. Die Menge des Rückstandes in der wässrigen Phase beträgt jetzt nur noch etwa 10% der eingesetzten Droge, aus der man durch eine Adsorptionschromatographie auf die übliche Art aus den ersten Fraktionen Digifolein neben Glykosid A kristallisieren kann. Die Ausbeuten bei dieser Methode entsprechen den früher beschriebenen.

Natürlich kann man die auf dem Aluminiumoxyd verbliebene Substanz mit stärker polaren Lösungsmitteln eluieren und zur weiteren Aufarbeitung verwenden. Ein Teil von etwa 20% des eingesetzten Materials wird vom Aluminiumoxyd festgehalten, der sich aber aus sehr polaren Verbindungen zusammensetzt, die für gewöhnlich bei diesen Arbeiten nicht interessieren und auch bei allen anderen Aufbereitungsmethoden verloren gehen.

Häufig erwies sich die Reinigung des Digifoleins vom begleitenden Strospesid als nicht vollständig und sehr langwierig. Hierfür ergab sich als die Methode der Wahl eine Verteilung zwischen mit Formamid gesättigter Cellulose und Chloroform. Im Papierchromatogramm ergeben sich für dieses System die Rf-Werte von 0,2 (Strospesid) und 0,9 (Digifolein).

2. Isolierung von Glykosid B aus Verodigen-Charge 31348.

Die oben beschriebene Abscheidung von Digitoxin und Gitoxin mit Essigester wurde auch hier angewandt. Die resultierende Mutterlauge wurde an Aluminiumoxyd chromatographiert und in Fraktionen mit gleichen Hauptbestandteilen an interessierenden Glykosiden zusammengefaßt. Mit der das Digifolein enthaltenden Substanz wurde eine Verteilungschromatographie durchgeführt, bei der die mobile Phase nach der Gradienten-

methode zugegeben wurde. Nach diesem Verfahren erhält man einen optimalen Verlauf der Kurve des Mengenverhältnisses im Eluiermittelgemisch und damit der Polaritätsänderung. Es wird eine sehr erwünschte Zusammendrängung der Zonen der verschiedenen Inhaltsstoffe erreicht. Voraussetzung ist, daß der Bereich bekannt ist, in dem die gesuchten Glykoside eluiert werden, um danach das Ausgangsgemisch zu wählen. Bei Bedarf kann man auch mehrere Elutionsreihen hintereinander an der gleichen Säule fahren.

Bei der Aufarbeitung der Fraktionen wurden 5 g Kristalle erhalten, die nach den benutzten Kriterien reines Digifolein sein mußten. Nach Mißglücken einiger damit angesetzter Reaktionen fiel auf, daß der mit Antimontrichlorid besprühte Fleck unter der UV-Lampe am unteren Rand eine blaue Fluoreszens zeigte. Sein Durchlaufchromatogramm ergab, daß er sich nach langer Laufzeit in zwei voneinander abgesetzte Flecke auftrennte.

Von vielen ausprobierten papierchromatographischen Systemen zeigte sich nur das Gemisch Benzol/Chloroform im Verhältnis 1:1 bei Formamidimprägnierung in der Lage, diese beiden Glykoside bei normaler, aufsteigender Anwendung zu trennen.

Für präparative Zwecke erschien die Aluminiumoxyd-Chromatographie mit Chloroform angebracht zu sein. In einem Probeansatz wurde die befriedigende Auftrennung in etwa 50% reines Digifolein, 30% Mischfraktionen und 20% reines Glykosid B festgestellt. Bei einer Übertragung dieses Ergebnisses auf eine größere Säule für das Restkristallisat wurde eine sehr schlechte Ausbeute erhalten, da die Durchführung mehrere Tage in Anspruch nahm. In dieser Zeit trat offensichtlich eine teilweise Zersetzung ein, wie das früher schon in Chloroform beobachtet worden war 3), wobei es so aussieht, als seien Gemische in dieser Hinsicht noch empfindlicher als reine Verbindungen. Eine Wiederholung der Isolierung war in Ermangelung der gleichen Charge nicht möglich. Der Gehalt des Verodigens an Glykosid B ist schätzungsweise halb so groß wie der des Digifoleins, ist aber mit Sicherheit sehr vom Ursprung der Droge und von anderen äußeren Bedingungen abhängig, da es bisher noch in keinem anderen Material angetroffen worden ist.

B. Eigenschaften des Glykosids B.

Schon das Verhalten bei der Isolierung des neuen Glykosids B zeigte, daß es sich um eine Verbindung handelt, die sich in ihren Eigenschaften eng an das Digifolein anlehnt und es dadurch über den langen Aufbereitungsweg hartnäckig begleitet.

Die Reindarstellung ergab bei der Analyse, daß es sich um ein Isomeres des Digifoleins handelt. Das IR-Spektrum ist in allen Bereichen, in denen sich eindeutige Aussagen machen lassen, fast identisch mit Digifolein. Nur in dem Intensitätsverhältnis der beiden Carbonylbanden und in der schwachen Aufspaltung der OH- und CH_2-Schwingungsbanden ergab sich ein geringfügiger Unterschied. Das UV-Spektrum weist ein Maximum bei 310 mu mit einem log. von 1,93 aus.

Auch die negative Drehung der Digitenole findet sich mit einem Wert von $[\alpha]_D^{24} = -144^\circ$ wieder.

Die Tetranitromethan-Reaktion ist positiv und die Teste mit TTC, nach Kedde, Viscontini und Witter-Stone verlaufen ebenfalls wie beim Digifolein.

Als augenfälliger Unterschied zu den bisher bekannten Digitenolen ist beim Glykosid B der papierchromatographische Fleck nach dem Besprühen mit Antimontrichlorid und Trocknen nicht intensiv dunkel blau-grau gefärbt, sondern zeigt nur eine relativ schwache, orange bis gelbliche Tönung am Tageslicht. Dem entspricht die Fluoreszens unter der UV-Lampe, die gegenüber seinem Isomeren mit leuchtendem Rot als bedeutend weniger auffallendes orange getöntes Blau absticht.

Es war daher zu erwarten, daß die Keller-Kiliani-Reaktion auf 2-Desoxyzucker negativ ausfällt.

Die für Digifolein und Lanafolein angewendeten Reaktionsbedingungen zur Abspaltung des Zuckers bleiben beim Glykosid B, wie papierchromatographische Befunde zeigten, ohne Einfluß auf das Molekül. Erst eine erhöhte Säurekonzentration und Erwärmung führt zu einer Abspaltung des Zuckers. Das dabei resultierende Aglykon zeigt im Papierchromatogramm Laufstrecken wie Glykosid-A-Genin. Der Zucker konnte wegen Materialmangels nicht identifiziert werden.

C. Untersuchungen zur Konstitution des Digifoleins.

1. Zur Doppelbindung.

Die beiden bisherigen Anhaltspunkte für die Doppelbindung waren die Tetranitromethan-Reaktion und eine Bande im IR-Spektrum. Die Farbreaktion ist sehr schwach, und daß das IR-Spektrum über die Doppelbindung keine eindeutige Aussage gestattet, zeigten die zu diesem Zweck in KBr und Chloroform aufgenommenen Vergleichsspektren von Steroiden mit und ohne Δ 5,6-Doppelbindung.

Bei der Wasserstoffanlagerung an die Doppelbindung konnte bisher noch kein einheitliches Produkt erhalten werden. Sie gelingt offenbar mit katalytisch erregtem Wasserstoff in Eisessig, wobei TSCHESCHE und Buschauer 1) schon fanden, daß die Reaktion mit Tetranitromethan verschwindet.

Die Oppenauer-Oxydation brachte ebenfalls keinen eindeutigen Beweis, da es sich nur um einen papierchromatographischen Befund handelt, der auch anders verursacht sein könnte.

Es boten sich für die Bestätigung der Doppelbindung noch weitere Methoden an:

a. Einwirkung von Ozon

verursacht nach kurzer Zeit vollständiges Verschwinden des Digifoleins, wie sich papierchromatographisch leicht nachweisen läßt, und es besteht kein Zweifel, daß dieser Effekt auf einen Angriff an der Doppelbindung zurückzuführen ist.

b. Behandlung mit Osmiumtetroxyd

in wasserfreiem Pyridin und Äther führt zur Bildung von gut ausgebildeten, langen, dunkelbraunen Nadeln, auf deren Isolierung verzichtet wurde, da es sich nur um den gesuchten Ester handeln kann.

c, Die Witter-Stone-Reaktion 9)

hat sich auch im hiesigen Institut als Hinweis für die Kombination einer Δ 5,6-Doppelbindung mit einer OH-Gruppe an C-3 bewährt. Auf das Genin des Digifoleins angewendet, ergab sie eine deutliche Violettfärbung.

d. Die Jodzahlbestimmung

erschien zur Erfassung von Doppelbindungen geeignet. Da

sie bisher aber noch nicht in solchen Fällen angewendet worden ist, wurde zuerst eine Reihe anderer Steroide mit gesicherter Konstitution getestet. Dafür bot sich das Dianhydrostrophanthidin an, da es in ß-Stellung zur Doppelbindung die Aldehydgruppe an C-10 aufzuweisen hat. Zur Festlegung des Jodverbrauches des Butenolidringes wurde Digitoxin herangezogen, und für die von anderen funktionellen Gruppen nicht gestörte Doppelbindung Cholesterin als Prototyp eingesetzt. Um auch noch über die eventuelle Wirkung eines glykosidischen Anteils an C-3 Aufschluß zu erhalten, wurde auf 5-Dehydro-epiandrosteron-glukosidtetraacetat zurückgegriffen. Es ergaben sich in mehreren Ansätzen folgende Molverbrauche:

Tabelle 1

Substanz	Molverbrauch
Cholesterin	1
Digitoxin	0
Dehydro-epiandrosteron-glukosidtetraacetat	1
Dianhydro-strophanthidin	1,5
Digifolein	0,5

Jodzahlbestimmung nach Kaufmann 10)

2. Zur Aldehydgruppe.

Für die Lage der Aldehydgruppe und ihre Funktion als solche liegen bisher einige Aussagen vor, die sie wahrscheinlich machen, aber nicht beweisen. Es wurde also nach weiteren Argumenten gesucht:

a. Aufnahme des IR-Spektrums mit Calciumfluorid-Prisma.

Hier ergibt sich die Möglichkeit zwischen einer Keto- und Aldehydgruppe zu unterscheiden. Herr Prof. Dannenberg erklärte sich bereit, einen Vergleich zwischen den Spektren von Strophanthidin und Digifolein durchzuführen. Er fand für das Digitenol eine " schwache aber deutliche Bande " bei der gleichen Wellenlänge wie im Strophanthidin, die ihr auch in der Intensität entsprach. Nach ihrer Lage ist sie auf die C-H-Schwingung der Aldehydgruppe zurückzuführen.

b. Versuch der Autoxydation von Digifolein.

Kürzlich wurde von HESSE 11) über die Autoxydation des Calotropins berichtet, in dem sich, wie im Digifolein vermutet, eine Aldehydgruppe an C-19 befindet. Man erreicht eine vollständige Oxydation, indem man während weniger Stunden unter Bestrahlung mit kurzwelligem Licht einen Luftstrom durch die Lösung des Steroids leitet.

Wird diese Behandlung auf Digifolein angewendet, so erhält man die Substanz auch noch nach 20 Stunden unverändert zurück. Vergleichsweise wurde der Versuch auch noch mit Dianhydrostrophanthidin durchgeführt und verlief dort ebenso negativ.

3. Die Reduktionsprodukte des Digifoleins.

Die Versuche, eine Stabilisierung des Digifoleins durch Perhydrierung zu erreichen, wurden fortgesetzt, und dabei von dem Gedanken ausgegangen, dieses Ziel durch Anwendung mehrerer Reduktionsmethoden hintereinander zu verwirklichen. Da aber keine größeren Mengen des Glykosids zur Verfügung standen, mußte in kleinen Ansätzen mit wenigen mg versucht werden, eine geeignete Methode zu finden. Dabei, wie auch bei anderen Umsetzungen, stellte sich verschiedentlich heraus, daß, wenn man zu präparativem Maßstab überging, die Versuche bei noch so sorgfältiger Übertragung der Reaktionsbedingungen anders verliefen. Schwierigkeiten traten häufig erst bei der Aufarbeitung oder bei den Reinigungsversuchen in Erscheinung.

a. Katalytische Reduktion in Methanol zu Dihydro-digifolein.

Durch Erhöhung der Platinmenge konnte die von BUSCHAUER 4) beschriebene Reduktion des Digifoleins schon in halbstündiger Reaktionsdauer vollständig durchgeführt werden. Schmelzpunkt, Drehung und Farbreaktionen stimmten mit den früheren Ergebnissen überein. Beim IR-Spektrum in KBr fiel jedoch auf, daß es nur noch ganz geringe Spuren einer Carbonylbande aufwies.

Um eine genauere Aussage über das Vorhandensein einer Doppelbindung zu erhalten, wurde das IR-Spektrum in Chloroform aufgenommen. Dabei stellte sich überraschenderweise her-

aus, daß in Lösung eine deutliche Carbonylfrequenz von ungefähr der halben Intensität wie im Ausgangsmaterial vorhanden war.

b. Reduktion mit Aluminiumamalgam zu al-Hydro-digifolein.

Dieses Verfahren wurde zuerst von LIPP 3) auf die Digitanolglykoside angewendet, in der Erwartung, unter Erhalt der Carbonylgruppe C-20 den Ätherring zu öffnen.

Bei der Übertragung auf Digifolein zeigte sich, daß die Reaktion hier noch glatter und mit besserer Ausbeute erfolgt. Das Reduktionsprodukt kristallisiert schon ohne Reinigung aus der Lösung aus und kann sehr leicht aus verschiedenen Lösungsmitteln umkristallisiert werden. Auch wird kein Lösungsmittel in das Kristallgitter eingebaut, wie es vom Lanafolein beschrieben ist.

Die typischen Farbreaktionen des Digifoleins können nicht mehr erzeugt werden. Al-Hydro-digifolein zeigt im IR eine CO-Frequenz bei 1710 cm^{-1}, wenn das Spektrum in Lösung aufgenommen wird. In KBr wird keine Carbonylbande beobachtet.

c. Katalytische Reduktion in Eisessig.

Bei verschiedenen Ansätzen wurde beobachtet, daß zwar die Hydrierung so geleitet werden kann, daß ganz überwiegend nur ein Produkt mit einem Rf von 0,32 im KI-Gemisch entsteht, jedoch gelang niemals eine Reindarstellung derart, daß man zu einem kristallinen Produkt gekommen wäre. Bei allen angewendeten Reinigungsmethoden entstanden immer mehrere Produkte, aus denen teilweise der Zucker abgespalten worden war, wie sich aus den Fluoreszenzen erkennen läßt.

Eine Verbindung, deren Rf im KI-Gemisch 0,78 beträgt, und die in allen Fällen, in denen der Fleck bei 0,32 gebildet wird, als Nebenprodukt auftritt, konnte in geringer Menge papierchromatographisch rein erhalten werden, ohne jedoch zu kristallisieren. Das IR-Spektrum ließ erkennen, daß es sich nicht um einen reinen Stoff handelt. Der einzige Schluß, der aus dem Spektrum abgeleitet werden kann, ist, daß auch in diesem Reduktionsprodukt die Aldehydgruppe unverändert geblieben ist, da es eine Bande bei 1710 cm^{-1} zeigt.

Die Carbonylbande ist auch von BUSCHAUER 4) in dem Rohprodukt der katalytischen Hydrierung in Eisessig gefunden worden.

In dem Befund bei der Tetranitromethan-Reaktion ergab sich ebenfalls Übereinstimmung mit Buschauer.

d. Katalytische Reduktion von Dihydro-digifolein in Eisessig.

Die Erwartung, auf diesem Wege zum gleichen Produkt zu kommen wie beim Einsatz von Digifolein selbst, wurde bestätigt, nur daß hier in größerer Menge das im KI-Gemisch weiter laufende Produkt entstand. Nachdem die üblichen Reinigungsverfahren wieder nicht zum Ziel führten, gelang durch präparative Papierchromatographie die Abtrennung einer kleinen Menge des kurzlaufenden Anteils. Er konnte mit Äther aus Aceton ausgefällt werden, war aber nicht kristallin. Auf dem Papierchromatogramm zeigten sich keine Verunreinigungen, und es ergab sich ein sauberes IR-Spektrum, das in der normalen Intensität eine Carbonylbande bei 1710 cm^{-1} aufwies.

e. Katalytische Reduktion von al-Hydro-digifolein in Methanol.

Dieser Versuch wurde nur mit Mikromengen durchgeführt, da sich dabei herausstellte, daß das Rohprodukt noch mit Tetranitromethan reagierte.

f. Katalytische Reduktion von al-Hydro-digifolein in Eisessig.

Sie führte zu einem Gemisch etlicher Produkte. Läßt man die Reaktion aber nicht zu lange laufen, so erhält man als Hauptprodukt eine etwas stärker polare Verbindung (Rf in KI: 0,18) von der es gelang, nach sehr verlustreicher Reinigung einige mg Kristalle zu erhalten. Bemerkenswerterweise konnte aus Äther umkristallisiert werden.

Die kleine Menge reichte nicht für eine Aufnahme des Spektrums in Chloroform. In KBr zeigte sich keine Carbonylbande. Die Tetranitromethan-Reaktion war positiv und die Analyse paßt auf ein Tetrahydro-digifolein.

g. Katalytische Reduktion in Dioxan bei verschiedenen Temperaturen.

Da in Dioxan die beiden Verbindungen erhalten worden waren, die in Methanol und Eisessig entstehen (neben der stark unpolaren), wurden die Mengenverhältnisse der einzelnen Produkte bei

Anwendung verschiedener Temperaturen papierchromatographisch untersucht. Das Ergebnis war die Feststellung, daß bei niederer Temperatur die Ausbeute an der unpolareren Substanz zunimmt. Eine präparative Aufarbeitung wurde nicht vorgenommen.

h. Reduktion des Dihydro-digifoleins mit Aluminiumamalgam.

In Ergänzung zu der Reduktion des al-Hydro-digifoleins mit Wasserstoff in Methanol und Platin als Katalysator sollte dieser Versuch dazu dienen, die Vermutung zu bestätigen, daß bei der katalytischen Reduktion ein anderes Zentrum angegriffen wird als bei der Reduktion mit Aluminiumamalgam. Sonst dürfte zumindest in einem Fall bei der Kombination dieser beiden Schritte keine Veränderung stattfinden.

Auch in diesem Falle ergab sich das Auftreten mehrerer Reaktionsprodukte, wobei das Gemisch noch positive Tetranitromethan-Reaktion zeigte.

i. Andere Hydrierungsversuche.

Da die bisher einzige Methode, zur Absättigung der Doppelbindung zu kommen, offenbar die Anwendung von Eisessig als Lösungsmittel erfordert, wobei man aber nie zu kristallinen Produkten gelangte, wurde noch auf einigen anderen Wegen versucht, die vollständige Hydrierung zu erreichen. Die Tetranitromethan-Reaktion diente dabei als Prüfstein. Auch ein gänzlich neuer Befund mit einheitlichen Produkten wäre interessant gewesen.

Weil bei den Versuchen mit Lithium in Ammoniak, mit Lithium-Aluminium-Hydrid und katalytisch unter Zusatz von Perchlorsäure kein wesentlicher Fortschritt zu verzeichnen war, seien sie nur im experimentellen Teil kurz angedeutet.

4. Behandlung von Digifolein mit Dowex 50

Alle Verfahren, vom Digifolein aus zu zuckerfreien Derivaten zu kommen, haben bisher nur zu unbefriedigenden Ausbeuten geführt, sofern sie überhaupt einen Erfolg zeitigten. Es wurde schon ausgesprochen 3), daß es wahrscheinlich größtenteils auf den Zucker und seine Umwandlungsprodukte zurück-

zuführen ist, wenn in vielen Fällen kein kristallines Produkt erhalten werden konnte. Daher erschien es wünschenswert, auf diesem Gebiet noch weitere Versuche zu unternehmen. Für diesen Zweck schienen saure Ionenaustauscher geeignet, von denen Dowex 50 ausgewählt wurde.

a. Einwirkung in Methanol und Dioxan.

In diesen beiden Lösungsmitteln wurde mit Dowex 50 entweder unverändertes Ausgangsmaterial bei kurzer Einwirkung und niederen Temperaturen, oder, bei längerer Einwirkung und in der Hitze, Ergebnisse erzielt, die es nicht ratsam erschienen ließen, größere Mengen Ausgangsmaterial einzusetzen.

b. Einwirkung in Aceton.

Die leichte Bildung von Digifologenin-acetonid aus dem Glykosid mit Kupfersulfat in Aceton veranlaßte dazu, den Versuch zur Entfernung des Zuckeranteils aus dem Molekül auf diesem Wege zu unternehmen. Nach verschiedenen Variationen stellte sich heraus, daß man tatsächlich in sehr guter Ausbeute und großem Reinheitsgrad zum Acetonid gelangt, wenn man Digifolein in wasserfreiem Aceton ca. 12 Stunden mit Dowex 50 rührt. Es wurden Ausbeuten bis zu 85% gefunden.

Zu dem von LIPP 3) gewonnenem Acetonid ergaben sich einige beträchtliche Unterschiede in den Eigenschaften, die wahrscheinlich auf verschiedene Reinheitsgrade zurückzuführen sind. Man muß in Betracht ziehen, daß Lipp nur eine Ausbeute von 5% Acetonid erhielt. Die IR-Spektren sind als identisch zu bezeichnen.

Der Schmelzpunkt lag schon beim Rohprodukt um 15° höher, und es konnte keine Tendenz zur Zersetzung beobachtet werden. In wasserfreiem Aceton war das Acetonid auch noch nach vielen Tagen in offenen Gefäßen unverändert. Lösungen für papierchromatographische Zwecke in Aceton hielten sich wochenlang. Die Kristallisationseigenschaften waren ausgezeichnet.

Zur Identifizierung wurden einige mg Digifolein nach der Vorschrift von Lipp in das Acetonid überführt und zusammen mit dem eigenen Produkt auf Papierchromatogramme aufgetragen. Sie liefen in allen Fällen gleich weit, doch wurde nach der älteren Methode ein zweiter, fast gleich starker Fleck bemerkt.

c. Nebenprodukte bei der Einwirkung in Aceton.

Dehnt man die Einwirkung von Dowex 50 auf Digifolein über mehrere Tage hinaus aus, so kann man deutlich weitere Umsetzungen verfolgen, die sich durch Auftauchen von neuen Flecken im Papierchromatogramm bemerkbar machen. Dabei zog einer von ihnen, der auch schon nach Behandlung von einigen Stunden erkennbar wird, das besondere Interesse dadurch auf sich, daß er unter der kurzwelligen UV-Lampe ohne vorherige Behandlung eine Löschung gab. Er ist nach Kedde und mit TTC anfärbbar, reagiert nicht nach Viscontini und zeigt nach dem Besprühen mit Antimontrichlorid und Trocknen nur eine schwache, bläuliche Fluoreszens. Wenn man Papierchromatogramme der Kaisersysteme wie gewöhnlich im Trockenschrank bei 100° trocknet, wird die Löschung allmählich schwächer und man sieht nach 20 Minuten nur noch einen löschenden Rand mit einem gelblich fluoreszierenden Kern.

Später als dieser Fleck tritt noch ein weiterer mit Löschung auf, der bedeutend polarer ist.

Bei dem Versuch, die die Löschung verursachenden Verbindungen präparativ aus dem reinen Digifologenin-acetonid zu gewinnen, da sie als Sekundärprodukte angesehen wurden, zeigte sich folgendes: Die erste Löschung konnte bereits nach einigen Stunden beobachtet werden und nahm im Verlaufe von zwei Tagen deutlich zu. Eine der Lösung entnommene Probe zeigte im UV ein deutliches Absorptionsmaximum von 225 mμ. Die Extinktion konnte infolge der unbekannten Konzentration nicht errechnet werden, ist aber sicher sehr hoch. Im weiteren Verlauf der Reaktion schien die erste Löschung nicht mehr zuzunehmen und es bildete sich die zweite, kürzer laufende, neben anderen nicht löschenden Flecken. Nach 120 Stunden wurde das Reaktionsgemisch aufgearbeitet.

30% des eingesetzten Acetonids kristallisierte nach Wasserzugabe aus der Lösung wieder aus. Der Rest wurde in eine präparative Papierchromatographie eingesetzt. Die erste löschende Zone ergab beim Eluieren aber nur eine ganz geringe Menge Rückstand, während der übrige Teil sich auf die anderen Flecke verteilte, so daß diese Reaktion nur bei Einsatz einer größeren Menge Digifologenin-acetonids zum präparativen Erfolg führen dürfte.

d. Einwirkung in wässrigem Aceton.

Es wurde papierchromatographisch sicher gestellt, daß bei der Behandlung von Digifologenin-acetonid in einem Gemisch aus Aceton und Wasser mit Dowex 50 in wenigen Stunden der Acetonrest vollständig abgespalten wird und Digifologenin entsteht. Da für das Genin keine Verwendung bestand, wurde auf die Bestimmung der Ausbeute mit einem größeren Ansatz verzichtet.

e. Einwirkung auf Lanafolein.

Die Behandlung von Lanafolein mit Dowex 50 unter den gleichen Bedingungen, wie oben beschrieben, führt zu denselben Ergebnissen.

5. Einwirkung von starken Säuren und Laugen.

Die Wirkung von Säuren auf Digifolein wurde bisher nur in sehr geringer Konzentration zwecks Spaltung des Glykosids untersucht. Offenbar hielt die Tatsache, daß schon geringe Erhöhung der Säurekonzentration oder Verlängerung der Einwirkzeit zu einer ganzen Fülle von Reaktionsprodukten führte, von weiteren Experimenten ab.

Es ergab sich die Frage, ob nicht durch hohe Konzentration an wirksamen Ionen eine bestimmte Reaktion einen solchen Vorzug vor anderen bekäme, daß sie zu einheitlichen Produkten führt. Solche ließen erwarten, daß die aktiven Zentren des Moleküls in eine stabile Form überführt worden wären.

a. Einwirkung von Salzsäure auf Digifolein.

Man kann mit Salzsäure einen Reaktionsverlauf erreichen, der so aussieht, als ob er ohne Bildung von viel Nebenprodukten vonstatten ginge, wenn man in Methanol gelöstes Digifolein mit der doppelten Menge konzentrierter Salzsäure versetzt und einige Stunden stehen läßt. Als Hauptprodukt entsteht eine Substanz, die im TKI-Gemisch einen Rf-Wert von 0,65 hat. Je nach der Art der Trocknung des Chromatogramms erhält man eine Löschung unter der kurzwelligen UV-Lampe, oder, wie beim Nebenprodukt des Digifologenin-acetonids, einen Kern mit gelblicher Fluoreszens und löschendem Rand. Die Kedde-Reaktion ist erhalten geblieben, der Test mit TTC gegenüber dem Digifolein deutlich verstärkt worden. Die Verbindung reagiert nicht mit Perjodat

Alle Bemühungen bei einem 30-mg-Ansatz zu einem kristallisiertem Produkt zu kommen, scheiterten auch nach wiederholter Adsorptionschromatographie. Selbst nach einer papierchromatographischen Trennung, bei der sich eine deutlich abgesetzte löschende Zone herausschneiden ließ, war der Rückstand des Eluats nach der Reinigung an Kieselgel noch stark gelb gefärbt.

b. Einwirkung von Natronlauge auf Digifolein.

Bei hoher Konzentration des Alkali zeigt das Hauptprodukt eine Vergrößerung der Polarität. Es verbleibt im KI-System am Start. Die Färbungen, die Antimontrichlorid am Tageslicht und bei UV-Bestrahlung hervorruft, blieben erhalten, ebenso wie die TTC-Reaktion. Dagegen läßt sich keine Anfärbung mehr mit dem Reagens nach Kedde erreichen.

Wird dieser Versuch in Abwesenheit von Wasser durchgeführt, so nimmt er einen gänzlich verschiedenen und uneinheitlichen Verlauf.

Isolierung und Reinigung beim Einsatz kleiner Mengen Ausgangsmaterials waren nicht möglich.

c. Die Einwirkung von Salzsäure auf Digifologenin-acetonid.

Sie sollte zum gleichen Ergebnis führen wie beim Digifolein. Es bestände die Möglichkeit, hier leichter eine Reinigung zu erreichen, da der störende Einfluß des Zuckers fortfällt. Die zur Verfügung stehenden Mengen erlaubten nur einen papierchromatographischen Befund, der die Erwartung bestätigte.

d. Einwirkung von Kalilauge auf Digifologenin-acetonid

lieferte bei den bisher angewendeten relativ langen Reaktionszeiten ein sehr unübersichtliches Gemisch von Produkten, von denen erwähnenswert erscheint, daß eines, das in erheblicher Menge entsteht, eine Löschung unter der kurzwelligen UV-Lampe zeigt, während die Farbreaktionen nach Kedde und mit TTC erhalten geblieben sind.

e. Einwirkung von Schwefelsäure auf Digifologenin-acetonid.

In Verfolgung der Ergebnisse bei der Einwirkung von Dowex 50 in Aceton auf Digifologenin-acetonid wurde das Verhalten bei höheren Konzentrationen an Wasserstoff-Ionen in wasserfreiem Medium untersucht. Die Bedingungen ließen sich einigermaßen durch Verdünnen von konzentrierter Schwefelsäure mit Aceton

erreichen. Stark verdünnte Lösungen lassen das Acetonid unverändert. In 3 n-Lösung ließ sich nach wenigen Stunden kein Ausgangsmaterial mehr nachweisen. An seine Stelle trat eine Löschung, die auf alle Teste gleich ansprach, wie das beim Benandeln mit Dowex 50 auch der Fall war.

Es lag nahe, festzustellen, ob die unter diesen Bedingungen entstandene Verbindung noch den Acetonidrest enthielt. Zu diesem Zweck wurde das durch Eindampfen erhaltene Rohprodukt zwei Tage in einer Mischung von gleichen Teilen Aceton und 2n Schwefelsäure stehen gelassen. Es entstand in etwa gleicher Menge, wie noch Ausgangsmaterial vorhanden war, eine bedeutend kürzer laufende Löschung mit gleichem Verhalten bei den Farbreaktionen, die aber außerdem noch mit Perjodat reagierte.

6. Versuche zur Bildung eines Halbacetals

sind schon von LIPP 3) unternommen worden, da das sterisch zwischen C-2 und C-19 möglich wäre. Es wurden die verschiedensten Bedingungen am Digifolein ausprobiert. Dabei stellte sich heraus, daß entweder überhaupt keine Umsetzung stattgefunden hatte, oder aber ein solches Gemisch entstanden war, daß eine Auftrennung unmöglich erschien. In dem Gemisch waren zwei Löschungen enthalten und ein Fleck, der trotz der typischen Zuckerfärbung eine viskontini-positive Reaktion ergab.

7. Versuche zur Abspaltung von Wasser

am Digifolein erschienen nicht sehr aussichtsreich, wurden aber trotzdem unternommen, da ein Erfolg von außerordentlicher Bedeutung gewesen wäre. Bei Entfernung der einzigen freien Hydroxylgruppe am Digifolein am Kohlenstoffatom 2 müßte man durch die Abspaltung des Zuckers zum Diginigenin kommen. Es wurden die verschiedensten Methoden angewandt: Mit Thionylchlorid, Phosphoroxychlorid, Kupfersulfat, Bortrifluorid über das Mesylat und Tosylat. Es zeigte sich jedoch durchweg, daß, sobald überhaupt eine Reaktion in Gang kam, ein sehr komplexes Gemisch entstand.

8. Versuche zur Darstellung von Digifolein-acetat.

Bei der Bedeutung, die die Gewinnung eines Acetates für die Konstitutionsaufklärung des Digifoleins haben würde, schien es angebracht, trotz der Mißerfolge, die LIPP 3) bei diesem Unternehmen mit dem Genin erlitten hatte, nochmals einige Mühe auf diese Reaktion zu verwenden. Die Einwirkung von Essigsäureanhydrid wurde sowohl in der Konzentration wie in der Dauer mannigfaltig variiert, wobei oberhalb einer bestimmten Grenze ein ganz unübersichtliches Gemisch von mindestens 10 Verbindungen entstand und unterhalb einer solchen Grenze keine Umsetzung stattfand. Ein einheitliches Produkt wie bei Lipp konnte in keinem Fall erhalten werden, sondern es zeigten sich im Papierchromatogramm neben dem Ausgangsmaterial zumindest immer zwei, etwa gleich starke Flecke. Ein Ansatz brachte durch sehr langsame Chromatographie an Kieselgel im Anschluß an andere Behandlung eine Auftrennung in die beiden Flecke, doch es konnte in keiner Weise ein kristallines Präparat daraus erhalten werden.

D. Diskussion der Ergebnisse.

Glykosid B erweist sich als ein neues Digitenolglykosid auf Grund der für diese Klasse charakteristischen Eigenschaften.

Da seine Summenformel mit der des Digifoleins identisch ist und der Zuckeranteil nicht aus einem 2-Desoxy-Zucker besteht, bleibt für das Aglykon nur eine Zusammensetzung über, die es als Desoxy-digifolein charakterisiert. Es zeigte von dem Genin des Glykosids A im Papierchromatogramm keine Abweichungen, so daß angenommen werden muß, daß sich die beiden Glykoside A und B nur in dem Zuckerrest voneinander unterscheiden.

Die Isolierung des Genins aus der neuen Verbindung dürfte auf ganz besondere Schwierigkeiten stoßen, da die Hydrolysenbedingungen so energisch gewählt werden müssen, daß das Aglykon nicht unverändert daraus hervorgeht. Beim Glykosid A

ist schon bei den weit milderen Bedingungen kein kristallisiertes Genin erhalten worden.

Die Identifizierung des Zuckers, der im Molekül des Glykosids B gebunden ist, konnte aus Materialmangel noch nicht unternommen werden.

Es besteht kein Zweifel, daß die Untersuchungen am Digifolein einwandfrei das Vorhandensein einer Doppelbindung erbrachten, die durch Ozon aufgespalten wird und Osmiumtetroxyd zu einem Ester addiert. Die WITTER-STONE-Reaktion bekräftigt die Annahme der Δ 5,6-Doppelbindung und die Jodzahlbestimmung gibt einen Hinweis auf ihre Stellung in Bezug auf die Aldehydgruppe durch den Vergleich mit Dianhydro-strophanthidin, bei dem sich die gleiche, reproduzierbare Annomalie für diese Reaktion ergab.

Eine weitere Analogie zum Dianhydro-strophanthidin in Bezug auf die Aldehydgruppe und Doppelbindung zeigte sich bei dem Versuch zur Autoxydation, durch den HESSE 11) am C a l o t r o p i n gezeigt hat, daß er in der Transreihe sehr leicht zum Lactol führt. Die Voraussetzung dafür ist allerdings das Vorhandensein einer freien OH-Gruppe an C-3 zur Bildung eines cyclischen Halbacetals 12), doch steht im Digifolein eine freie Hydroxylgruppe an C-2 zur Verfügung, die, wie weiter unten gezeigt wird, zu einer gleichen Reaktion befähigt ist. Diese Annahme müßte erwarten lassen, daß die beiden Verbindungen gleiches Verhalten zeigen, und zu einem Lactol führen, da sie sterisch durch die Lage der Doppelbindung fast mit der Transform übereinstimmen. Es zeigt sich jedoch, daß sie gegen Autoxydationsversuche vollkommen beständig sind.

Mit dem in einem späteren Abschnitt angeführten chemischen Beweis für die Lage der Aldehydgruppe aus den Arbeiten von Shoppee und im Zusammenhang mit der schon früher bewiesenen 2ß-3ß-Konfiguration 8) der beiden OH-Gruppen kann die Teilkonfiguration des Digifoleins in den Ringen A und B als gesichert angesehen werden.

Die jetzt gefundene Methode zur Darstellung des Digifologenin-acetonids durch Einwirkung von Dowex 50 in Aceton auf das Glykosid bietet eine Möglichkeit, mit sehr guter Ausbeute den Zuckeranteil zu entfernen und so mit einem Derivat zu arbeiten, das in wasserfreiem Medium relativ beständig ist und nicht die Komplikationen gibt, die sonst durch die Umwandlungsprodukte des Zuckers verursacht wurden.

Auch ist es höchstwahrscheinlich die Methode der Wahl, um von Reaktionsprodukten des Glykosids zu den Geninen zu kommen, da sich der Acetonidrest auf dem gleichen Wege der Behandlung mit Dowex 50 wieder abspalten läßt.

Bei den Aufnahmen der Ultrarotspektren des Dihydro- und Tetrahydro-digifoleins hatte sich gezeigt, daß in beiden Fällen in KBr keine Carbonylbande zu sehen war, während bei der Aufnahme in Chloroform eine deutliche Bande bei 1710 cm^{-1} vorhanden ist.

BUSCHAUER 4) und LIPP 3) hatten die Spektren der Hydrierungsprodukte nur in KBr vermessen lassen und für das Dihydrodigifolein noch eine Carbonylbande angegeben. Die vorliegenden Spektren zeigen jedoch deutlich, daß von einer solchen nicht mehr die Rede sein kann. Um eine quantitative Aussage machen zu können, wurde zunächst die Reproduzierbarkeit der Intensitäten der einzelnen Banden der Spektren aus den verschiedensten Zeiten, Chargen und Arbeiten überprüft. Dabei ergaben sich die Werte der folgenden Tabellen 2 und 3.

Tabelle 2

Digifolein	:	1,28	1,29	1,29	1,30	1,30	1,32
Digifologenin-acetonid	:	1,01	1,01	1,02	1,02		

Verhältnis der Flächenintegrale der IR-Banden von Carbonyl 1 zu Carbonyl 2. (Bezeichnung nach 1)).

Tabelle 3

Digifolein :	0,65	0,66	0,69	0,69

Verhältnis der Flächenintegrale der IR-Banden von Carbonyl 1 zu CH_2.
(Bezeichnung nach 1))

Für Dihydro-digifolein ergab sich nun für das Verhältnis der Flächenintegrale von Carbonyl- zu CH_2-Bande folgendes Bild :

Tabelle 4

Dihydrodigifolein (eigenes)	:	0,02
Dihydrodigifolein (Gemisch nach 4))	:	0,14
Dihydrodigifolein (Gemisch nach Entfernung von "10% schrägen Tafeln" 3))	:	0,10
Dihydrodigifolein ("10% schräge Tafeln" 3))	:	0,64
Digifolein	:	0,67

Verhältnis der Flächenintegrale der IR-Banden von Carbonyl 1 zu CH_2. (Bezeichnung nach 1))

Es läßt sich also offenbar der Schluß ziehen, daß auch in den früheren Spektren des Dihydro-digifoleins keine echte Carbonylbade mehr vorhanden war. Die kleinen Reste derselben müssen aus dem Nebenprodukt der "10% schrägen Tafeln" stammen 3), bei dem die Reaktion anscheinend einen prinzipiell anderen Verlauf nimmt. Die Feststellung von BUSCHAUER 4), daß die Dihydroprodukte aus den Reaktionen mit Natrium-borhydrid und katalytisch erregtem Wasserstoff identisch sind, besteht zu Recht.

Es bleibt die Erscheinung zu klären, daß bei den beiden Hydrierungsprodukten eine deutliche Carbonylbande in Chloroform auftritt, mit einer Intensität, die 40 bis 50% des ursprünglichen Betrages erreicht. Rein physikalisch läßt sich das nicht deuten, so daß eine chemische Erklärung gefunden werden muß. Es liegt nahe, anzunehmen, daß dafür ein intramolekulares Gleichgewicht verantwortlich gemacht werden kann,

von dem ein Partner schwerer löslich ist und deshalb beim Kristallisieren alleine entsteht. Beim Auflösen stellt sich das Gleichgewicht in diesem Falle wahrscheinlich sehr langsam ein, denn bei der Wiederholung der Aufnahme des Spektrums von al-Hydro-digifolein war die auftretende Carbonylbande erheblich kleiner. Entweder wurde also bei der ersten Aufnahme ein älteres Chloroform verwendet, dessen saure Eigenschaften die Einstellung des Gleichgewichtes katalysierte oder die Vermessung wurde erst nach längerem Stehen der Lösung durchgeführt.

Für ein derartiges Gleichgewicht kommt bei der Zusammensetzung der Digitanole nur ein Halbacetal in Frage, an dem die Aldehydgruppe beteiligt sein müßte, da die typischen Eigenschaften der Carbonylgruppe an C-17 verloren gegangen sind.

Es ist nicht denkbar, die aus der Öffnung des Ätherringes entstehende Hydroxylgruppe für ein cyclisches Halbacetal heranzuziehen, da der ursprüngliche Ätherring an C-14 angreifen muß (s.weiter unten) und von hier aus kein Ringschluß möglich ist. Abgesehen davon, würde die dafür erforderliche Ringöffnung durch katalytische Reduktion in Methanol auch den Erfahrungen und Erwartungen widersprechen. Es verbleibt nur noch die Hydroxylgruppe an C-2, die auf diese Weise die Carbonylgruppe blockiert, wie das nachher auch noch für die Hydroxylgruppe des Diginigenins nachgewiesen wird. Wenn für das Dihydro-digifolein eine Wechselwirkung zwischen der OH-Gruppe an C-2 und der Aldehydgruppe wahrscheinlich gemacht wird, so kommt einem der Gedanke, nach Anzeichen für eine ebensolche beim Digifolein selbst zu suchen. In der Tat würde ein solches Gleichgewicht eine Anzahl von Erscheinungen klären, für deren Deutung bisher noch keine Anhaltspunkte gegeben waren.

1.) Die Extinktion der UV-Absorptionen der Carbonylbanden im Digifolein und Lanafolein müßten nach der Berechnung unter Berücksichtigung der Δ 5,6-Doppelbindung einen erheblich höheren Betrag erwarten lassen. Zieht man in Betracht, daß ein Teil der wirksamen Zentren durch die Halbacetalform ausgeschaltet ist, so wird der Fehlbetrag verständlich.

2.) Wie Tabelle 2 zeigt, ist die Intensität der von der Aldehydgruppe stammenden Bande, im IR-Spektrum beim Digifolein sehr genau reproduzierbar, erheblich geringer als die der Ketogruppe, während sie beim Digifologenin-acetonid, in dem die beiden Hydroxylgruppen festgelegt sind, ebenfalls sehr genau reproduzierbar, die gleiche Intensität hat.
3.) Digifolein und Lanafolein bilden kein Phenylhydrazon oder Oxim, wie es vom Diginigenin mit Leichtigkeit erhalten werden kann 13). Man darf annehmen, daß bei dem Anteil des Gleichgewichtes, der nicht in der Halbacetalform vorliegt, diese schon durch eine Wasserstoffbrückenbindung vorgebildet ist. Dadurch wird die Aldehydgruppe räumlich derart fixiert, daß ein Angriff des Reagens nicht mehr möglich ist.
4.) Diese Wasserstoffbrückenbindung wäre ein Argument für die Verschiebung des UV-Absorptions-Maximum gegenüber dem bei den Steroiden mit A/B-cis-verknüpften Ringen. Dieses Faktum ist auch in gleicher Weise für die Steroide mit freier OH-Gruppe an C-3, Aldehydgruppe an C-10 und transverknüpften Ringen A/B beobachtet worden. 11).
5.) Die Aufnahme des IR-Spektrums von Digifolein mit einem Calciumfluorid-Prisma durch Herrn Prof. DANNENBERG hatte das Vorhandensein einer C-H-Schwingung der Aldehydgruppe in Chloroform ergeben, die in Kaliumbromid nicht zu erkennen war und bei der gleichen Wellenlänge wie im Strophanthidin lag. Bei dieser Vergleichssubstanz war die Bande aber schon "schwach, jedoch deutlich", und wenn man annimmt, daß auch beim Digifolein in kristallisierter Form mehr vom Halbacetal vorliegt als in Lösung, so ist es nicht verwunderlich, daß die an sich schon schwache Bande nun ganz zurück tritt.

Diese neuen Befunde lassen es angebracht erscheinen, die Arbeiten über das Diginigenin einer eingehenden Betrachtung zu unterziehen, da durch die Menge der experimentellen Ergebnisse auf Grund der größeren Stabilität des Moleküls, die Möglichkeit gegeben ist, die Formelvorschläge auf ihre Leistungsfähigkeit zu überprüfen.. Die bisherigen Deutungen des Tatbestandes zeigten eine Reihe von Formeln mit "verbotenen

Reaktionen", womit solche gemeint sein sollen, die zwar experimentell durchgeführt wurden, aber der Formel nach nicht einzusehen sind und umgekehrt.

Eine Klärung der Verhältnisse könnte dem Verständnis der Digitanolchemie sehr nützlich sein.

Will man die Arbeiten über das Diginigenin weiterhin als Grundlage der Konstitutionsvorschläge für das Digifologenin betrachten, so ist es wichtig, eine Erklärung dafür zu suchen, daß an dem später für Diginin gehaltene Material nicht einmal der erste Schritt der Experimente von Shoppee, nämlich die Isolierung des Aglykons, eine Übereinstimmung mit den darüber veröffentlichten Material brachte. Wie in der Einleitung erwähnt, war es Shoppee selbst damit auch nicht anders ergangen.

Da die experimentellen Ergebnisse nun aber einmal feststehen, bleibt als einzige Möglichkeit nur der Schluß, daß das früher von Shoppee bearbeitete Kristallisat nicht mit dem identisch war, das heute noch zur Verfügung steht. Das geht auch noch aus einer weiteren Überlegung hervor, wenn man nämlich die von SHOPPEE 13) angegebenen Ausbeuten in Betracht zieht.

In dem von ihm Anfang 1960 überlassenen Glykosidgemisch sind schätzungsweise 20 bis 30% Digifolein enthalten 6). Bei der Spaltung zum Aglykon kann dieser Anteil unter den verwendeten harten Bedingungen unmöglich zu einem kristallinen Produkt geführt haben, ebensowenig wie bei der Darstellung der verschiedenen Acetate, des Semicarbazons und des Oxims. Die angegebenen Ausbeuten liegen bei einigen der Reaktionen so hoch, daß sie bei einem Ausfall von nur 10% des Ausgangsmaterials 100% überschreiten und auch in den anderen Fällen unglaubwürdig hoch würden.

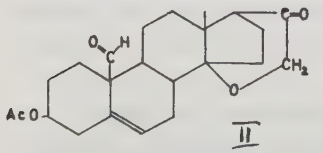
Man kommt zu der Vermutung, daß Shoppee das von der Firma Hoffman la Roche stammende Material eventuell durch Umkristallisieren oder Säulenchromatographie gereinigt hat und die Kristallisate der Mutterlauge als verunreinigtes Diginin aufbewahrte. In diesem Material ist auch als Hinweis auf diese Schlußfolgerung ein dritter, sehr schwacher Fleck enthalten, der die üblichen Farbreaktionen der Digitanole

aufweist 6). Er läuft im KI-Gemisch zwischen Glykosid A und Digifolein und wurde in vielen Verodigenchargen beobachtet. Seine Bezeichnung am hiesigen Institut ist vorläufig "G l y - k o s i d C" und es könnte sich bei ihm um das ursprüngliche Diginin handeln. Eine papierchromatographische Untersuchung war zu der Zeit der Entdeckung und Bearbeitung des Diginins nicht möglich, worin aber die einzige Methode besteht, solche Unterscheidungen zu treffen.

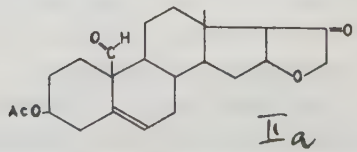
Aus dem gleichen Grunde wäre es auch noch denkbar, daß es sich bei dem Material aus der Industrie schon um verschiedene Chargen gehandelt hat, die für einheitlich gehalten worden sind. Ein solcher Fehlschluß ist in der Gruppe der Digitenole leicht zu treffen, da alle diese Glykoside bei der Aufarbeitung an der gleichen Stelle erscheinen, sich in vielen Eigenschaften außerordentlich ähneln und Mischkristalle bilden. So wurde z.B. auch von REPIĆ und TAMM 14) berichtet, daß ein Präparat, das als Digifolein angesehen worden war, sich nachträglich als ein Gemisch von Digifolein und Diginin herausstellte.

Für die Darstellung der von Shoppee für das Diginigenin und seine Derivate benutzten Formeln wird die heute gültige Konstitution in den Ringen A und B benutzt, die von ihm selbst noch offen gelassen worden war.

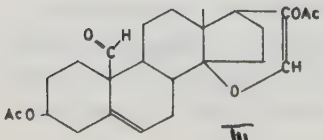
In seiner ersten Arbeit hatte SHOPPEE 13) nachgewiesen, daß Diginigenin sowie dessen Monoacetat (II und IIa) und Enoldiacetat (III und IIIa) ein Mono-Phenylhydrazon und Monoxim bilden.



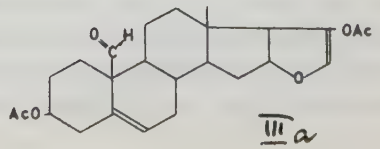
II



IIa



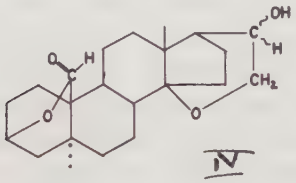
III



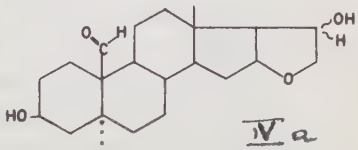
IIIa

Daraus geht einwandfrei hervor, daß diese Reaktion an der Aldehydgruppe und nicht an der Ketogruppe angreift. Die Carbonylgruppe an C-20 muß also sterisch gehindert sein, was wegen der Methylgruppe an C-13 vorstellbar ist.

Das durch katalytische Reduktion in Eisessig gewonnene Tetrahydro-genin (IV, IVa) zeigte keine auf die Aldehydgruppe zurückzuführende Eigenschaften mehr und bildete in Übereinstimmung damit kein Oxim.



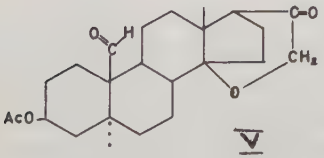
IV



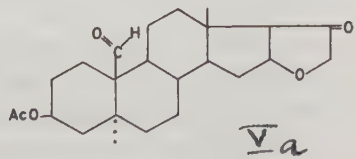
IVa

Für dieses veränderte Verhalten kann nicht die durch die Reduktion bewirkte Transstellung verantwortlich sein, da sie ebenso wie bei Cis-Verknüpfungen der Ringe A/B in C-19 ein Oxim gibt 12). Es ist auch nicht einzusehen, daß die Reduktion der so weit von der Aldehydgruppe entfernten Sauerstoff-Funktion an C-20 einen Einfluß auf die Oximbildung haben sollte.

Die Erklärung für diese Tatsache kann man aus dem Vergleich mit dem Dihydro-diginigenin-monoacetat (V,Va) ablesen, denn dieses bildet wiederum ein Oxim 2).



V



Va

Die zwingende Schlußfolgerung daraus ist, daß die freie Hydroxylgruppe mit der Aldehydgruppe zur Bildung eines Halbacetals in Reaktion tritt, wenn die Doppelbindung im Diginigenin hydriert wird (IV). Auch hier wird wieder, wie beim

Digifolein angenommen, nur ein Gleichgewicht vorliegen, denn die Acetylierung führt ja zum 3-Acetat.

Ein solches Gleichgewicht ist schon für diese spezielle Struktur von TAMM 12) und HUNGER und REICHSTEIN 15) angenommen worden und die Darstellung der cyclischen Lactole diente beim Strophanthidin 16) und Corotoxigenin 17) als Nachweis für die Lage der Aldehydgruppe im Molekül. 18).

Für die allgemein beobachtete Verschiebung des Maximums der UV-Absorption der A/B-Trans-Reihe gegenüber der A/B-cis-Reihe könnte wiederum eine Erklärung durch das Vorliegen einer Wasserstoffbrücken-Bindung herangezogen werden, denn aus sterischen Gründen läßt sich dieses Phänomen nicht einsehen.

Beim Diginigenin selbst ist die Bildung eines Halbacetals offensichtlich aus sterischen Gründen nicht möglich, denn es wurde ein Oxim dargestellt.

Man könnte vermuten, daß bei der katalytischen Hydrierung von Diginigenin und Digifolein in Eisessig der Ätherring geöffnet wird, was jedoch nach den Shoppee'schen Befunden ausgeschlossen wird. Wenn man nämlich Diginigenin-mono-acetat reduziert und anschließend die an C-20 entstandene OH-Gruppe wieder mit Chromsäure oxydiert, so gelangt man zu einem Keton (Va und V, S.32) 2), das die für den Sauerstoffring des Ausgangsmaterials bezeichnenden Farbreaktionen hervorruft, so daß die typischen Konfigurationen erhalten geblieben sein müssen. Das Enoldiacetat des Ketons V ließ sich außerdem mit Ozon zu einem Produkt spalten, daß noch alle Kohlenstoffatome enthält 2), was bei geöffnet gewesenem Ring nicht denkbar wäre.

Für die Verknüpfung mit einem bekannten Steroid waren die SHOPPEE'schen Arbeiten über die Reduktion nach Wolf-Kishner ausschlaggebend und erfolgreich 5).

Zu den vorgeschlagenen Deutungen des Reaktionsverlaufes läßt sich aber prinzipiell sagen, daß es aus verschiedenen Gründen ausgeschlossen ist, daß in einem der Reaktionsprodukte noch eine Aldehydgruppe erhalten geblieben wäre. Der Mechanismus dieses Abbaus besteht ja darin, daß das gebildete

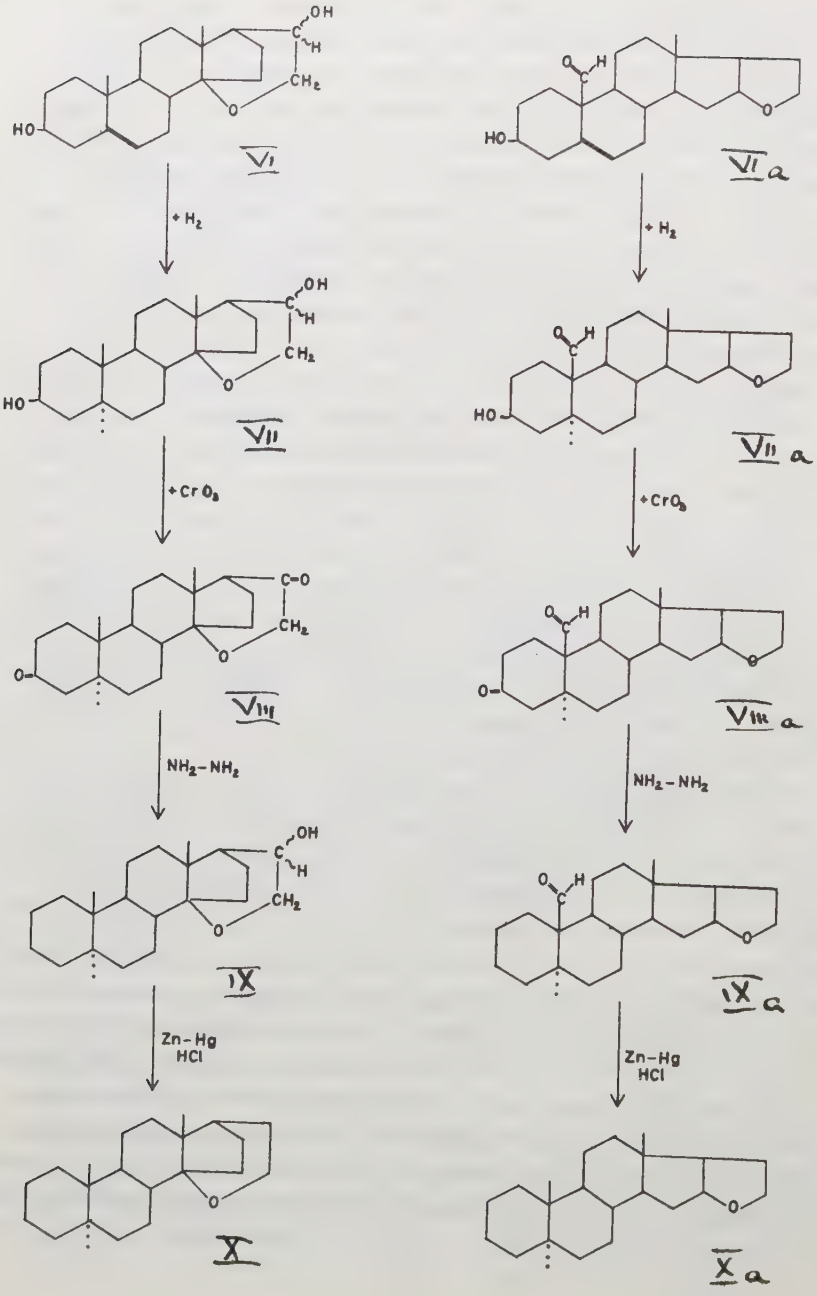
Hydrazon durch die Gegenwart des Natriumalkoholats unter Stickstoffentwicklung zersetzt wird. Shoppee kam zu den gleichen Reaktionsprodukten 2), wenn er anstatt des Diginigenins dessen Phenylhydrazon einsetzte, von dem festgestellt wurde, daß die Stickstoffgruppierung an C-19 steht. Dort kann also unmöglich die Carbonylgruppe erhalten geblieben sein.

Sollte die Reduktion in diesem Falle entgegen den Angaben durch Anwesenheit von Wasser nur zum Alkohol an C-19 geführt haben 19), so hätte sich dieser durch die Aufnahme einer weiteren Acetylgruppe bei der Veresterung bemerkbar machen müssen.

Bei allen in der Literatur beschriebenen Steroiden mit einer Aldehydgruppe an C-10, die in der Lage ist, ein Oxim zu bilden, ist bei der Wolf-Kishner-Reduktion noch kein abweichendes Verhalten festgestellt worden 20)21)22). In einigen Fällen führte sie zur Verknüpfung mit bekannten Verbindungen, da auf diese Weise nur eine Methylgruppe zurück bleibt.

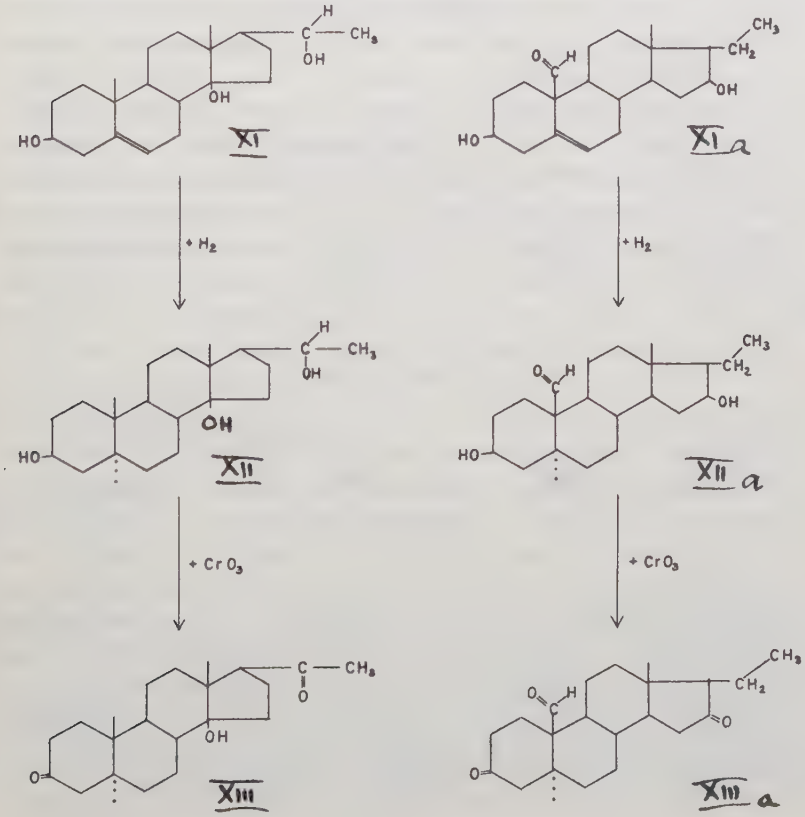
Da Shoppee bei den beiden Hauptprodukten der Reduktion die Erhaltung der Aldehydgruppe annahm, die von ihm ja erst als Carbonylfunktion ungewisser Struktur charakterisiert worden war, ist es nicht verwunderlich, daß diese Formulierung bei den weiteren Umsetzungen zu "verbotenen Reaktionen" führte, auf die nun eingegangen wird.

Das Produkt, das bei der Reduktion in der Größten Menge entstand, (VIa,S.35) zeigte keine Aldehydreaktionen mehr und bildete auch kein Phenylhydrazon und Monoxim. Da außer einer Reduktion an C-20 nichts geschehen sein sollte, wäre nicht einzusehen, warum die Aldehydgruppe ihr charakteristisches Verhalten verloren haben sollte. Beim kurzen Kochen mit Acetanhydrid wurde nur die Bildung eines Monoacetats festgestellt, was ein Einwand gegen die Formel (VI,S.35) wäre, hätte SHOPPEE 13) nicht schon für das Tetrahydro-diginigenin (IV,S.32) gefunden, daß die Hydroxylgruppe an C-20 unter diesen Bedingungen nicht acetylierbar ist, während sie unter den milderen Bedingungen in Pyridin mit Acetanhydrid bei Zimmertemperatur eine Umsetzung eingeht. 2). Das mag an dem alkalischen Medium liegen.


HO
OH
H
CH2
O
VI
+ H2
VII
+ CrO3
C=O
VIII
NH2 – NH2
IX
Zn – Hg
HCl
X
VIa
VIIa
VIIIa
IXa
Xa

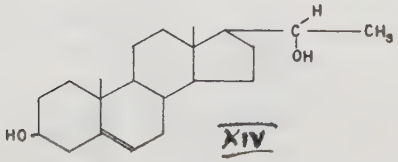
Während in der Formelreihe (VIIa bis Xa, S.35) bei jedem der Produkte die gleichen Bedenken wegen der Bildung der Acetate und des Oxims auftreten, macht die Reihe (VII bis X) alle Befunde von Shoppee erklärlich.

Das zweite Hauptprodukt der Einwirkung von Hydrazin (XIa) und dessen weitere Abbaustufen lassen wiederum nicht einsehen, warum sie keine Aldehydreaktionen geben, zumindest dann nicht, wenn die Bildung eines Halbacetals zwischen C-3 und C-19 nicht möglich ist. Für das Triketon (XIIIa) liegt keinerlei Grund vor, daß es kein Trioxim bilden sollte. Es wurde jedoch nur ein Dioxim und ein Mono-Phenylhydrazon erhalten.

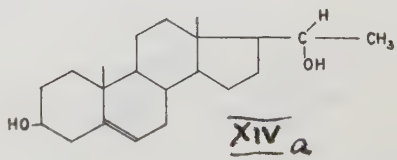


Das Primärprodukt (XI) gibt durch kurzes Kochen mit Acetanhydrid ein Diacetat, kann das zweite Hydroxyl also nicht an C-20 in der Form enthalten wie in (VI, S. 35), da es dann nicht acetylierbar sein dürfte. Die einzige dafür mögliche Erklärung ist die Öffnung des Ätherringes, und da hierbei nur e i n e acetylierbare Hydroxylgruppe entsteht, ist dieser Schritt der Beweis dafür, daß das Ring-Sauerstoffatom an einem tertiären Kohlenstoffatom des Steroidgerüstes angreifen muß. Als solches stehen aber nur die Kohlenstoffatome C-14 und C-8 zur Verfügung, von denen das letztere ausscheidet, da sich am Modell ergibt, daß von hieraus eine Verknüpfung mit C-20 aus sterischen Gründen undenkbar ist. Auf dem Wege (XI bis XIII) gelangen wir zu einem Endprodukt, das noch drei Sauerstoffatome enthält, von denen zwei eine Carbonylfunktion darstellen und die Ursache für die Bildung des Dioxims sind.

Es ist ohne Weiteres einzusehen, daß das dritte, hypothetische Produkt der Wolf-Kishner-Reduktion (XIV) bei der von TSCHESCHE und Buschauer 1) gegebenen Deutung des Reaktionsverlaufes auch nach Formel (I, S.7) zum gleichen Ergebnis führen muß, wie Shoppee angenommen hatte, und daß es bis zur Endstufe, dem Diginan, keine Veranlassung zu Korrektionen gibt.



XIV



XIV a

Es wurden also aus diesem Rückblick so viele zusätzliche "Bestimmungsdaten" abgeleitet, daß zu ihrer Erklärung für die Konstitution des Digifoleins, bzw. des Diginigenins keine Zweideutigkeit besteht und der Formelvorschlag von TSCHESCHE und Buschauer 1) eine sehr große Wahrscheinlichkeit in Anspruch nehmen kann, der Wirklichkeit zu entsprechen.

Wenden wir uns nun wieder dem Digifolein und seinen Hydrierungsprodukten zu.

Für das mit Aluminiumamalgam gewonnene al-Hydro-Genin muß ein neuer Formelvorschlag gewonnen werden, da es auch hier, wie beim Dihydro-digifolein offenbar wurde, daß das IR-Spektrum in Chloroform eine Carbonylbande aufwies. Es ist naheliegend, anzunehmen, daß wir es ebenfalls mit einem Halbacetal zwischen C-2 und C-19 zu tun haben, die Aldehydgruppe also erhalten, aber blockiert ist.

Die von Lipp gegebene Deutung war auch aus dem Grunde unbefriedigend, da sie nicht erklären konnte, wieso nur ein Triacetat gebildet wurde, und weil sie im Widerspruch zu zwei Erfahrungstatsachen stand: er hatte dieses Agens in der Erwartung angewendet, daß der Ätherring unter Erhalt der Ketogruppe geöffnet werden müßte 23) 24), was in diesem Fall scheinbar nicht zutraf. Dann ist bekannt, daß Steroide mit einer Aldehydgruppe an C-10 bei A/B-transverknüpften Ringen weder von Aluminiumamalgam noch von in Eisessig katalytisch erregtem Wasserstoff angegriffen werden 15) 25). Das Gleiche ist bei einer Δ 5,6-Doppelbindung zu erwarten und zumindest für die atalytische Methode am Diginigenin 13) und Digifolein erwiesen. Es ist mit dem Antiarin 26-30) ein Fall beschrieben, der dieser Regel zu widersprechen scheint, der aber höchstwahrscheinlich auf einem Irrtum beruht und der im Interesse der eigenen Sache kurz beleuchtet werden soll.

Die ersten Arbeiten, die einen Einblick in das chemische Verhalten des Glykosids Antiarin gaben, stammen von KILIANI 26) 27) 28). Er fand in dem Molekül eine Carbonylfunktion, die er vergeblich mit Aluminiumamalgam zu reduzieren versuchte. Später erhielt TSCHESCHE 29) einige Gramm dieses Materials von ihm zur Bearbeitung. Er stellte fest, daß das Glykosid bei katalytischer Reduktion 2 Mol Wasserstoff aufnahm und das nach Kiliani gewonnene Aglykon hierbei 4 Mol verbrauchte, also ein Dianhydro-genin war. Die dabei aktiven Zentren des Moleküls vermutete er in drei Doppelbindungen und der Oxogruppe. Für diese schlug er die Stellung an C-19 vor, was nach der allgemeinen Kenntnis möglich war, da die Ergebnisse über das

Verhalten einer solchen Gruppe bei der Reduktion in Bezug auf die Verknüpfung der Ringe A und B erst aus den letzten Jahren stammen. REICHSTEIN 30) berichtet in einer späteren Arbeit über ein von ihm aus der gleichen Pflanze isoliertes Glykosid, das er auf Grund der sehr ähnlichen Eigenschaften als das von Kiliani beschriebene Antiarin hielt. In zwei Punkten unterschied es sich aber von dem früheren Produkt: 1) Das Kristallwasser konnte nicht vollständig wie bei Kiliani durch Stehen über Schwefelsäure entfernt werden, sondern dafür war 24-stündiges Erhitzen auf 100° im Hochvakuum erforderlich. 2) ließ es sich glatt mit Aluminiumamalgam zum Alkohol reduzieren. Man kann vermuten, daß sich die beiden Verbindungen an dem, wie wir heute wissen, für dieses Verhalten maßgeblichen Zentrum, dem C-5, voneinander unterschieden. Reichstein klärte die Konstitution des Antiarins so weit, daß man an C-5 in seinem Fall eine cisständige Hydroxylgruppe annehmen kann. Es ist unwahrscheinlich, daß in einer Pflanze sowohl cis- wie trans-Formen vorkommen, und so bleibt zur Erklärung der Trägheit nur noch die 5,6-Anhydroform. Das würde den Verbrauch von 2 Mol Wasserstoff erklären, während nicht einzusehen wäre, daß eine C-19-Aldehydgruppe mit Eisessig in den Alkohol überführt wird und gegen Aluminiumamalgam indifferent ist.

Es ist nicht zu entscheiden, ob die Doppelbindung erst durch den Transport eingeführt worden ist, denn Kiliani 28) schreibt, daß die Mutterlauge des Antiarins sauer reagierte und nach neueren Ergebnissen wird die OH-Gruppe an C-5 bevorzugt abgespalten. Da die Summenformel aber offenbar mit der Substanz von Reichstein übereinstimmt, müßte sich eine Hydroxylgruppe in den beiden Verbindungen durch ihre Stellung unterscheiden. Sicher ist, daß auch beim ursprünglichen Antiarin keine Möglichkeit an C-16 besteht, denn das UV-Spektrum des Dianhydroproduktes 29) zeigte keine Absorbtion bei 338 mμ, wie es für diesen Fall erforderlich wäre. 31).

Es kann sich bei diesen Überlegungen natürlich nur um Vermutungen handeln, aber es ist näherliegend, anzunehmen, daß die von den beiden Autoren bearbeiteten Antiarine nicht miteinander identisch waren, als die experimentellen Befunde Kilianis über den Gehalt an Kristallwasser und die Reduktion

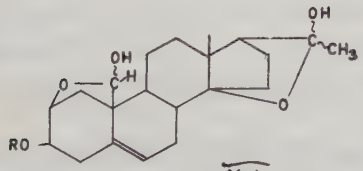
mit Aluminiumamalgam anzuzweifeln und zusätzlich für das Verhalten der Aldehydgruppe in Bezug auf die Reduktion eine sonst noch nicht beobachtete Anomalie einzugestehen.

Den Ergebnissen über die Konstitution des Antiarins ist auch nur vorläufiger Charakter zugeschrieben worden und die letzten Arbeiten 32) zeigen, daß gerade über die Lage der OH-Gruppe noch Zweifel bestehen, da auch mit Varianten innerhalb der "Antiarine" gerechnet werden muß.

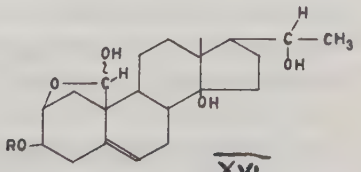
Das Antiarin ist also kein Anlaß, Ausnahmen bei der Reduktion mit Aluminiumamalgam annehmen zu müssen und beim Digifolein speziell deshalb nicht, weil die Aldehydbande in Chloroform sichtbar wird und katalytisch kein Angriff auf die Carbonylfunktion an C-10 erfolgt.

Es sind noch andere Aussagen über das al-Hydro-digifolein möglich. Es ließ sich zeigen, daß diese Verbindung bei der katalytischen Reduktion in Methanol verändert wird. Da hierfür kein anderer Eingriff als die Umwandlung der Keto- in die Alkohol-gruppe denkbar ist, muß diese im Ausgangsmaterial, dem al-Hydro-digifolein, noch erhalten gewesen sein, was mit der Erwartung, die an die Arbeiten von CAHN 23) anzuschließen sind, kombiniert.

Ferner war es LIPP 3) aufgefallen, daß die Analysenwerte seines "Tetrahydro-lanafoleins C" besser mit einem Dihydroprodukt übereinstimmten, was auch beim analogen Produkt aus Digifolein der Fall war. Trotzdem mußte er sich für ein Tetrahydro-produkt entscheiden, da sonst das Fehlen der beiden Carbonylbanden nicht erklärt werden konnte. Es spricht nichts dagegen, auch für die Hydroxyl-gruppe an C-14 und die Carbonylfunktion C-20 ein cyclisches Halbacetal anzunehmen und dadurch alle bekannten Tatsachen in Übereinstimmung zu bringen. (XV).



XV



XVI

Leider gelang es auch bei dieser Arbeit nicht, auf dem Wege der katalytischen Reduktion in Eisessig zu einem kristallinen Stoff zu kommen, obwohl darauf große Mühe verwendet wurde. Einige mg papierchromatographisch reiner Produkte konnten aus der Umsetzung mit Digifolein bzw. Dihydrodigifolein erhalten werden, doch lassen sie keinen weiteren Schluß zu, als den, daß die Aldehydgruppe erhalten geblieben ist und die Tetranitromethan-Reaktion negativ ausfiel.

Bei der Reduktion unter gleichen Bedingungen von al-Hydro-digifolein, bei dem man erwarten darf, daß es zu einem Hexahydroprodukt führt, konnte eine Substanz isoliert werden, die offenbar ein Zwischenprodukt und wahrscheinlich das Tetrahydro-digifolein (XVI,S.40) ist, da es noch eine positive Tetranitromethan-Reaktion verursachte.

Über die anderen Reduktionsergebnisse beim Versuch der Verknüpfung der einzelnen Verbindungen untereinander Aussagen zu machen, wäre verfrüht, da es sich nur um vorläufige Resultate handelt. Es bestand ursprünglich nur die Absicht, ein total hydriertes Produkt zu erhalten, wozu aber offenbar immer die Anwendung von Eisessig erforderlich ist und wobei die Schwierigkeiten der Isolierung und der bisher noch nicht gelungenen Kristallisation auftreten.

Aus dem gleichen Grunde ist es auch noch nicht möglich, die Ergebnisse der Einwirkung von starken Säuren und Laugen auf Digifolein zu überblicken. Zweifellos würde die Isolierung solcher Produkte einen tieferen Einblick in das Verhalten des Moleküls geben und zu stabilen Konstitutionen führen. Man muß sich aber immer vor Augen halten, daß die Papierchromatographie noch keine Aussage über die präparativen Möglichkeiten machen kann, da es durchaus denkbar ist, daß ein einziger gefundener Fleck noch nicht gestattet, den Schluß zu ziehen, daß es sich bei ihm um das Hauptprodukt handelt. Die Hauptmenge des Ausgangsmaterials könnte auch zu Verbindungen führen, die im Papierchromatogramm nicht in Erscheinung treten.

Es ist überraschend, daß Digifolein schon bei den Bedingungen der Acetylierung in Pyridin ein so uneinheitliches

Verhalten zeigt, wenn es auch gelingt, die Umsetzung zu nur zwei Produkten zu leiten. Es dürfte sich hierbei um ein Gemisch von Mono- und Diacetat handeln. Das freie Hydroxyl des Zuckers müßte schwer acetylierbar sein, ein Enolacetat ist durch die Bedingungen und die positive Kedde-Reaktion ausgeschlossen. Es hat durchaus den Anschein, als könnte eine Isolierung bei Einsatz einer etwas größeren Menge Digifolein gelingen.

Diese Labilität zeigt sich auch bei der Darstellung des Digifologenin-acetonids, da selbst unter solch milden Bedingungen, wie die Einwirkung von Dowex 50, ein Nebenprodukt gebildet wird. In diesem Falle zeigte das sogar eine Absorption unter der kurzwelligen UV-Lampe, woraus zu schließen ist, daß es sich um eine tiefgreifende Änderung handelt. Anreicherung oder Kristallisation war nicht möglich, da bei längerer Reaktionszeit offenbar weitere Umsetzungen erfolgen.

Eventuell handelt es sich bei dem mit Schwefelsäure in wasserfreiem Aceton gebildeten Produkt um die gleiche Verbindung, und es sieht so aus, als könne diese in vollständiger Umsetzung erhalten werden. Hierbei kann die Absorption nicht auf die Wasserabspaltung im Ring A zurückgeführt werden, da der Acetonid-Rest offenbar noch im Molekül vorhanden ist. Bei der Behandlung in wässrigem Aceton mit Schwefelsäure entsteht nämlich aus dem löschenden Fleck ein ebensolcher, erheblich stärker polarer mit einer positiven Viscontini-Reaktion.

Sehr aufschlußreich könnten auch noch die Reaktionen von konzentrierter Salzsäure mit Digifologenin-acetonid und von starkem Alkali mit diesem und Digifolein selbst sein. Diese Untersuchungen stehen jedoch noch ganz in den Anfängen.

Aus den in dieser Arbeit vorgebrachten Ergebnissen und Deutungen resultieren eine Reihe von interessanten Versuchen, die die Kenntnis über die Digitanole erweitern, und vor allem auch eine Bestätigung der vorgeschlagenen Formeln für die Reaktionsprodukte des Digifoleins bringen könnten:

Der Osmiumester des Digifologenin-acetonids sollte es ermöglichen, bei geeigneter Kristallform eine Röntgenanalyse durchzuführen.

Stellt man die Acetonide von Dihydro-digifologenin und al-Hydro-digifologenin her, so müßten diese die Carbonylbande der Aldehydgruppe auch in KBr zeigen, da eine Halbacetalbildung nicht mehr möglich ist.

Sollte es sich beim al-Hydro-digifolein doch um ein Tetrahydroprodukt handeln, in dem die Ketogruppe reduziert worden ist, so müßte die tertiäre OH-Gruppe beim Acetylieren des entsprechenden Acetonids im IR-Spektrum zu erkennen sein.

Man sollte auch erwarten, daß alle Acetonide, insbesondere das des Genins, durch ein Phenylhydrazon und Oxim charakterisiert werden können, da die Unfähigkeit zu dieser Reaktion auf die räumliche Fixierung der Aldehydgruppe in Form einer Wasserstoffbrückenbindung zurückgeführt wurde. In diesem Falle müßte auch die Wolf-Kishner-Reaktion zu einem Abbau führen, vor allem, wenn es möglich sein sollte, hierfür das Phenylhydrazon einzusetzen.

Zu einem Perhydrierten Digifolein ist offenbar nur zu gelangen, wenn man die drei Methoden mit Aluminiumamalgam, Natriumborhydrid und katalytische Reduktion miteinander verbindet. Dabei muß höchstwahrscheinlich die Aluminiumamalgam-Methode an erster Stelle stehen, da nach Reduktion der Ketogruppe die Ringöffnung möglicherweise auf Schwierigkeiten stößt.

Es ließen sich noch weitere, leicht zu überprüfende Postulate machen, die jedoch bisher experimentell nicht zur Ausführung kamen, da Schwierigkeiten in der Beschaffung des Rohmaterials eine Unterbrechung an dieser Stelle erforderten. So muß die endgültige Klärung späteren Arbeiten überlassen bleiben.

Z U S A M M E N F A S S U N G

Es werden die Isolierung des "Glykosids B", eines neuen Inhaltsstoffes aus Verodigen, und deren Eigenschaften beschrieben. Es ist isomer mit Digifolein, enthält jedoch keinen 2-Desoxy-Zucker im Molekül. Sein Aglykon ist höchstwahrscheinlich identisch mit dem Genin aus "Glykosid A".

Einige Verbesserungen für die Aufarbeitung von Verodigen-Chargen werden angegeben.

Für die Darstellung von Digifologenin-acetonid wird eine neue Methode angeführt, die, im Gegensatz zu den früheren, mit guter Ausbeute ein Produkt von hohem Reinheitsgrad liefert. Es dürfte zur Gewinnung der Genine aus dem Glykosid und dessen Umwandlungsprodukten und beim Einsetzen in Reaktionen anstelle des Digifoleins gute Dienste leisten.

Das an Lanafolein erprobte Reduktionsverfahren mit Aluminiumamalgam wurde mit Erfolg auf Digifolein übertragen. Es wird wahrscheinlich gemacht, daß es sich nicht um ein Tetrahydro-, sondern um ein Dihydro-Produkt handelt, in dem zwei cyclische Halbacetale vermutet werden (XV,S.40).

Auch beim Dihydro-digifolein machen die Befunde die Annahme eines cyclischen Halbacetals zwischen C-3 und C-19 erforderlich, was anschließend beim Digifolein zur Deutung einer Reihe von Erscheinungen mit teilweise allgemeingültiger Bedeutung führt.

Es wird eine Reihe von experimentellen Ergebnissen angeführt, die die Konstitution des Digifoleins in den Ringen A und B sichert. Der eindeutigste davon ist der Nachweis, daß die Aldehydgruppe im Diginigenin nach der Hydrierung der Doppelbindung mit der Hydroxylgruppe an C-3 ein Halbacetal bildet, was aus den Arbeiten von Shoppee hervorgeht.

Es wird nachgewiesen, daß das Präparat von Shoppee, das zur Identifizierung des am hiesigen Institut isolierten "Glykosids A" diente, nicht mit dem Material identisch sein kann,

das Shoppee für seine Arbeiten verwendet hat. Das erklärt, daß diese Arbeiten nie reproduziert werden konnten.

Die eingehende Analyse der Arbeiten von Shoppee über das Diginigenin in Anschluß an die neuen Einsichten bringen eine befriedigende Deutung aller Befunde, deren Interpretation bisher zu vielen Widersprüchen geführt hat. Dabei wird herausgestellt, daß der Ätherring der Digitenole an einem tertiären Kohlenstoffatom angreifen muß. In Verbindung mit der Tatsache, daß ein solcher Ring an dem einzigen, dafür noch in Frage kommenden Atom, dem C-5, aus sterischen Gründen unmöglich ist, erhält die von TSCHESCHE und Buschauer vorgeschlagene Formel (I,S. 7) für das Diginigenin einen sehr hohen Grad an Wahrscheinlichkeit, da die anderen Funktionen in den Ringen A und B jetzt als gesichert gelten dürfen.

Das Studium der Literatur über das Verhalten der Aldehydgruppe an C-10 bei der Reduktion machte es erforderlich, die vermutete Identität des Antiarins von Reichstein mit dem von Kiliani in Absprache zu stellen.

Die Erfahrungen bei einer ganzen Anzahl von Reaktionen am Digifolein, die teilweise an der Undurchführbarkeit scheiterten, teilweise wegen Materialmangels im Anfangsstadium aufgegeben werden mußten, werden mitgeteilt.

III. B E S C H R E I B U N G der V E R S U C H E

A l l g e m e i n e s.

Schmelzpunkte

Bestimmung auf einem Mikroskopheiztisch nach WEYGAND. (Angaben unkorrigiert)

UV-Spektren

Aufnahmen mit Zeiss-Spektralphotometer Modell PMQ II.

UV-Spektren mit CaF_2-Prisma

Ausführung von Herrn Prof. Dr. H. DANNENBERG, München.*

IR-Spektren

Ausgeführt mit einem Perkin-Elmer-Spektrometer Modell 21 von Herrn ROSE.

Analysen

wurden von Herrn Dr. Ing. A. SCHOELLER, Kronach/Obfr. bestimmt.

Jodzahlbestimmungen

besorgte Herr ROTH** nach KAUFMANN 10).

Analysenlampen

für die Auswertung der Papierchromatogramme stammen von der Quarzlampengesellschaft Hanau mit 336 mμ für Antimontrichlorid-Besprühung und mit 254 mμ für unangefärbte Chromatogramme.

Anfärben der Papierchromatogramme

erfolgte mit Antimontrichlorid 18), mit 3,5-Dinitrophenylhydrazon nach KEDDE 33), mit Triphenyltetrazoliumchlorid-Lösung 34) (TTC) und mit Perjodat-reagens nach VISCONTINI 35). (Die Perjodatlösung wurde jedoch nur in der vierfachen Verdünnung, wie angegeben, benutzt, da sonst häufig ein falscher, positiver Befund beobachtet wurde.)

Farbreaktion

mit Ammoniummolybdat nach WITTER-STONE 9).

Papierchromatographische Systeme

nach TSCHESCHE 36)

Pentanol/Wasser (P/W)

Octanol/Pentanol/Wasser/Formamid 5:5:6:6 (5566)

KAISER 37)-Systeme

Tetrahydrofuran/Chloroform 1:1 5% Formamid	(KII)
Xylol/Butanon 1:1	(KI)
Toluol/Butanon 1:1	(TKI)
Chloroform	(Cf)
Chloroform/Benzol 1:1	(B/Cf)
Cyclohexan	(CH)
Cyclohexan/Benzol 1:2	(CH/B 1:2)
Cyclohexan/Benzol 2:1	(CH/B 2:1)

Alle (außer KII) Formamid gesättigt. Imprägnierung des Papieres mit 20% Formamid in Aceton.

Papier

wurde ausschließlich von SCHLEICHER und SCHÜLL (2043 b) benutzt.

Abkürzung

für Tetranitromethan-Reaktion auf Doppelbindungen: TNM

---

* Herrn Prof. Dannenberg gilt mein Dank für das freundliche Interesse, das er diesen Bestimmungen entgegenbrachte.

** Ich danke Herrn Roth für die Ausführung der Bestimmungen.

Aufarbeitung von Verodigen-Chargen AKI.

200 g Verodigen der Charge AKI wurden unter Erwärmen auf 50° in 600 ml Essigester gelöst. Nach dem Abkühlen und vierstündigem Stehen wurde von den ausgefallenen Kristallen abfiltriert (65 g). Die Mutterlauge wurde im Vakuum so weit eingeengt, daß noch eben alle Substanz in Lösung blieb, und dann an 400 g Siebbodenrückstand von Aluminiumoxyd aufgezogen. Durch Stehenlassen und einige Male Schütteln in 2 l Essigester mit einem Zusatz von 5% Methanol wurde in vier Stunden nebst anderen Glykosiden das gesamte Digifolein eluiert. Der Gesamtrückstand dieser Lösung betrug nach dem Spülen mit Essigester 60 g. Dieser wurde in 100 ml Methanol gelöst, mit 100 ml Äther vermischt und dann durch Zugabe von 100 ml Wasser die Scheidung in zwei Phasen erreicht (gibt man das Wasser vor dem Äther zu, so erfolgt Ausfällung). Nun konnte in einem Flüssigkeitsextraktor bis zum Farbloswerden des abfließenden Äthers das gesamte Digifolein in der wässrigen Phase festgehalten werden. Sie ergab beim Eindampfen noch einen Rückstand von 17 g. Bei einer folgenden normalen Aluminiumoxyd-Chromatographie an der 25-fachen Menge Adsorbens enthielten die ersten Fraktionen mit Essigester Glykosid A und Digifolein. Von dem letzteren wurden nach Reinigung 1800 mg erhalten. Schmelzpunkt, IR- und UV-Spektrum, Drehung und Farbreaktionen stimmen mit den früheren Angaben überein. Einige zusätzliche Daten wurden festgestellt:

R_F-Werte : in KI 0,12 in KII 0,70 in Cf 0,90
in B/Cf 0,65

Farbreaktion : nach Witter-Stone positiv

Isolierung von Glykosid B aus Verodigen 31348.

400 g Verodigen wurden in 750 ml Essigester 15 Minuten auf 60° erwärmt. Nach Erkalten und kurzem Stehen wurde abgesaugt und die Fällung mit 400 ml Essigester wiederholt. Für die Chromatographie an 7 kg Aluminiumoxyd wurde das Filtrat auf 800 g Adsorbens aufgezogen. Die Elution begann mit Essig-

ester-25% Petroläther und es folgten Essigester und Essigester-1% Methanol (je 2 l). Als diese Lösungsmittel durchgelaufen waren, zeigte das Papierchromatogramm, daß das gesamte Digifolein eluiert war. Es wurde begleitet von Glykosid A, Glykosid B, Gitoxigenin und etwas Strospesid, sowie von kleineren Mengen anderer nicht interessierender und identifizierter Verbindungen (insgesamt 45 g).

Über die Weiterverarbeitung der auf der Säule verbliebenen Substanz siehe 38).

In eine 800 mm lange Glassäule mit einem Querschnitt von 86 mm wurden 1700 g Cellulospulver mit Aceton eingeschlemmt und durch Verdrängung mit Formamid beladen. Das überschüssige Formamid wurde mit Benzol-10% Chloroform ausgewaschen und die Equilibrierung mit Benzol-10% Chloroform/Formamid-gesättigt erreicht. Aus dem gleichen Gemisch bestand die mobile Phase, in der die Substanz gelöst wurde.

Die Verteilung ging nach der folgenden Methode vonstatten: in ein Mischgefäß von 4 l Benzolphase, aus dem die Säule beschickt wurde, liefen kontinuierlich aus einem kommunizierendem Gefäß 3350 ml Chloroform zu. Dieses war nur zu 80% mit Formamid gesättigt, um die Ausscheidung des Formamids aus dem Träger hintenan zu stellen. Für Homogenität der mobilen Phase sorgte ein Vibromischer. Zum Ausgleich der verschiedenen Dichten der Lösungsmittel wurde ein entsprechender Radius für die Vorratsgefäße gewählt. Nach Durchlauf der vorgegebenen Phase wurde mit weiteren 4 l Formamid-gesättigten Chloroforms eluiert.

In der Folge der Inhaltsstoffe der einzelnen Fraktionen spiegelten sich deren R_F-Werte wieder. Strospesid, Formylstrospesid und Gitoxigenin verblieben nahezu quantitativ auf der Säule.

Die Digifolein enthaltenden Fraktionen wurden gereinigt, im Vakuum von Benzol und Chloroform befreit, in reinem Chloroform aufgenommen und dann durch Waschen mit Wasser das Formamid entfernt. Nach Eindampfen wurden 12 g Rückstand erhalten, aus dem mit Essigester/Äther 5500 mg Substanz auskristallisierte, die im Kaiser-System wie einheitliches Digifolein aussah, aber ein Gemisch mit Glykosid B darstellte.

Bei einer Chromatographie von 100 mg dieses Gemisches an 20 g gesiebtes Aluminiumoxyd kam mit Chloroform/1% Methanol die erste Substanz von der Säule, und die Polarität des Eluiermttels wurde nicht weiter erhöht. Zusammenfassung der Fraktionen ergab nach den Papierchromatogrammen 44 mg Digifolein, 26 mg Mischfraktion und 19 mg Glykosid B.

Darauf wurden die restlichen 2300 mg des Mischkristallisates an 400 g Aluminiumoxyd auf gleiche Weise chromatographiert. Da es sich aber um eine größere Menge handelte, nahm die Aufarbeitung mehrere Tage in Anspruch, wobei ganz offensichtlich eine Zersetzung eingetreten ist. Es wurden nur 400 mg Digifolein-, 250mg Misch- und 300 mg Glykosid-B-Fraktionen erhalten, die zudem alle noch mit Verunreinigungen behaftet waren, die vorher nicht festgestellt werden konnten. Auch beim Übergang zu starker polaren Lösungsmitteln bis zu Chloroform/Methanol 1:1, kam keine Substanz mehr von der Säule.

Aus der Glykosid-B-Fraktion konnte durch nochmaliges Chromatographieren an Aluminiumoxyd mit Essigester und einigem Umkristallisieren aus Aceton/Äther 120 mg dieser neuen Verbindung als monokline Prismen rein gewonnen werden.

Schmp. : 208-216° $[\alpha]_D^{20} = -144°$ (c=1,01)

R_F-Werte : in KI 0,12 in KII 0,70
in Cf 0,90 in B/Cf 0,45

Farbreaktionen : KEDDE, TTC, TNM, WITTER-STONE positiv
VISCONTINI negativ
$SbCl_3$ orange im UV bläulich gelb

IR-Befund : Carbonylbanden bei 1715 und 1740 cm^{-1}
OH-Banden bei 3520 und 3440 cm^{-1}

UV-Befund : λmax 310 mμ log ε 1,93

$C_{28}H_{40}O_8$ (504,6) : Ber. C 66,38 H 8,38 %
Gef. 66,24 8,63

Einwirkung von Ozon auf Digifolein.

In ein auf -50° gekühlte Lösung von 3 mg Digifolein in 3 ml Essigester wurden mit einer Kapillare wenige Bläschen eines durch einen Ozonisator geleiteten Sauerstoffstromes eingeführt. Nach dem Abdampfen des Ozons und Essigesters im Vakuum ließ sich im Papierchromatogramm kein Digifolein mehr nachweisen. Es zeigte sich nach der üblichen Benandlung mit $SbCl_3$ ein neuer Fleck mit grüner Fluoreszens, der so viel polarer war, daß er auch noch im System B/Cf am Startpunkt blieb.

Osmiumsäureester von Digifolein und Cholesterin.

Die Reaktion läßt sich nur mit gut getrockneten Lösungsmitteln durchführen, und bei Mikroansätzen müssen auch die Gefäße sorgfältig von Wasser frei gehalten werden. 9 mg Digifolein wurden in 0,5 ml trockenem Pyridin gelöst und mit einer Lösung von 4 mg Osmiumtetroxyd in 0,5 ml wasserfreiem Äther versetzt. Es trat sofort Gelbfärbung ein, die über Nacht bis zum Braun nachdunkelte, wobei sich feine, lange und dunkelbraune Nadeln des Osmiumesters ausschieden. Seine Zersetzung mit Schwefelwasserstoff nimmt keinen einheitlichen Verlauf, wie papierchromatographische Untersuchung zeigte.

Zu Vergleichszwecken wurde dieser Versuch in der gleichen Weise mit Cholesterin durchgeführt und nahm denselben Verlauf.

Darstellung von Dianhydro-strophanthidin.

Diese Verbindung wurde nach den Angaben von WINDAUS 39) mit einer Gesamtausbeute von 30% erhalten.

R_F-Wert : in TKI 0,65 Schmp. : 214-217°

Farbreaktion: mit $SbCl_3$ gelb bis rosa

Autoxydationsversuche am Dianhydro-strophanthidin.

Durch eine Lösung von 5 mg Dianhydro-strophanthidin wurde genau nach Vorschrift von HESSE 11) 20 Std. lang ein Luft-

strom unter Bestrahlung mit einer kurzwelligen UV-Lampe gesaugt. Es entstanden keine sauren Anteile und das Papierchromatogramm ergab unverändertes Ausgangsmaterial.

Autoxydationsversuche an Digifolein.

Ausführung wie beim Dianhydro-strophanthidin mit gleichem Ergebnis.

Dihydro-digifolein.

450 mg Platinoxyd wurden in 20 ml Methanol so lange bei Zimmertemperatur mit Wasserstoff geschüttelt, bis keine Aufnahme mehr erfolgte. Dann wurden 430 mg Digifolein in einer Lösung von 20 ml Methanol zugegeben und mit möglichst wenig Methanol nachgespült. Beim erneuten Schütteln mit Wasserstoff setzte eine schnelle Reduktion ein, die nach etwa 30 Minuten beendet war. Es wurde ein weißer Schaum erhalten, dessen Papierchromatogramm im KI-System einen ganz überwiegenden Hauptfleck mit einem R_F-Wert von 0,14 zeigte, neben sehr schwachen Flecken mit den R_F-Werten von 0,32 und 0,78. Eine Nachhydrierung brachte keine Veränderung mehr. Beim Aufnehmen in wenig Essigester und Zusatz von etwa 10% Äther kristallisierte aus dem Schaum 210 mg der Dihydro-Verbindung, die papierchromatographisch rein waren und roh einen Schmelzpunkt von 185-195° zeigten, der nach Umkristallisieren aus dem gleichen Gemisch und anschließend aus Aceton/Äther dann konstant blieb. Durch Säulenchromatographie konnte keine Verbesserung der Ausbeute erreicht werden.

Schmp.	:	193 - 196°
R_F-Werte	:	in KI 0,14 in TKI 0,16 in 5566 0,87
Farbreaktionen	:	KEDDE und TTC negativ
		TNM schwach positiv wie Digifolein
		$SbCl_3$ blaugrau im UV purpur
IR-Befund	:	in KBr keine Carbonybande
		in Cf Carbonylbande bei 1713 cm^{-1}
$C_{28}H_{42}O_8$	:	Ber. C 66,38 H 8,36 %
		Gef. 66,39 8,41

al-Hydro-digifolein.

1200 mg Digifolein wurden in 20 ml erwärmten Dioxan gelöst. Aus 2 g Aluminiumblech wurden feine Streifen geschnitten, die durch kurzes Behandeln mit einer 5%igen $HgCl_2$-Lösung in Wasser und schnelles Abgießen, Waschen mit Wasser, Methanol und Äther stark aktiviert werden konnten. Dieses Aluminium ließ man mit wässrigem Äther unter ständigem Rühren 4 Std. auf das Digifolein einwirken. Nach dem Filtrieren und Verjagen des Lösungsmittels ergaben sich 1350 mg weißen Schaumes, aus dem durch Lösen in Aceton und Versetzen mit wenig Äther innerhalb einiger Stunden 550 mg dicke, quaderförmige Kristalle ausgeschieden wurden. Der Rückstand der Mutterlauge zeigte im Papierchromatogramm kaum Verunreinigungen, konnte aber nicht zur Kristallisation gebracht werden, auch nicht nach Reinigung durch Chromatographie.

Schmp.	:	206-210° $[\alpha]_D^{20}$ = - 215° (c=1,240)
R_F-Werte	:	in KI 0,05 in TKI 0,08 in KII 0,61 in P/W 0,50
Farbreaktionen	:	KEDDE, VISCONTINI, TTC negativ TNM schwach positiv $SbCl_3$ blaugrau im UV purpur
IR-Befund	:	in KBr keine Carbonylbande in Cf Carbonylbande bei 1710 cm^{-1}

$C_{28}H_{44}O_8$ (508,6):	Ber.	C	66,11	H	8,72 %
$C_{28}H_{42}O_8$ (506,6):	Ber.		66,38		8,36
	Gef.		66,17		8,28
LIPP 3)	Gef.		66,27		8,36

Katalytische Reduktion von Digifolein in Eisessig.

200 mg Digifolein und 200 mg PtO_2 wurden in 20 ml Eisessig bei Raumtemperatur 5 Stunden in Wasserstoffatmosphäre geschüttelt. Nach dem Neutralisieren mit Bicarbonatlösung wurde mit Chloroform ausgeschüttelt, getrocknet und eingedampft. Der Rückstand wies im KI-System einen Hauptpfleck mit einem R_F-Wert von 0,32 auf und sehr wenig Nebenprodukt bei 0,14 und 0,78. Er wog 180 mg.

Nach vergeblichen Versuchen zur Reindarstellung durch Adsorptions- und Verteilungs-Chromatographien verblieben noch 50 mg Substanz. Je 10 mg davon wurden an 8 cm breiten Papierstreifen im KI-System chromatographiert. Nach Lokalisierung der Zone des Hauptproduktes an einem sehr schmalen Mittelstreifen, wurde diese herausgeschnitten, eluiert und über 100 mg Kieselgel schnell chromatographiert. So konnten 40 mg eines amorphen Produktes durch Ausfällen mit Äther aus Aceton erhalten werden.

R_F-Wert	:	in KI 0,32
Farbreaktionen	:	KEDDE, VISCONTINI, TTC, TNM negativ $SbCl_3$ blaugrau im UV purpur
IR-Befund	:	Carbonylbande bei 1710 cm^{-1} (in KBr)

Katalytische Reduktion von Dihydro-digifolein in Eisessig.

Ansatz 1.

3 mg Dihydro-digifolein und 3 mg PtO_2 wurden in Eisessig 1 Std. mit Wasserstoff geschüttelt. Nach Aufarbeitung wie oben ergab das Papierchromatogramm nur einen Fleck mit einem R_F-Wert von 0,78 in KI.

Ansatz 2

70 mg Dihydro-digifolein wurden mit 70 mg PtO_2 in 10 ml Eisessig 1 Std. hydriert. Nach Aufarbeitung zeigte das Papierchromatogramm in KI zwei Flecke mit den R_F-Werten von 0,32 und 0,78. Der Kürzere davon erwies sich im Vergleich als identisch mit dem gleichen R_F-Wertes, bei der direkten Hydrierung von Digifolein entstandenen. Nochmalige Hydrierung unter den gleichen Bedingungen brachte keine Veränderung mehr. Der Rückstand wurde an 10 g gesiebten Aluminiumoxyds chromatographiert. Schon mit Benzol wurde Substanz eluiert, die vorher im Papierchromatogramm nicht zu sehen gewesen war. Auch die beiden gesuchten Hydrierungsprodukte kamen mit dem gleichen Lösungsmittel von der Säule, jedoch in getrennten Fraktionen und mit anderen Verunreinigungen. Durch weitere Säulenchromatographie konnte keine Erhöhung des Reinheitsgrades erzielt werden.

10 mg des unpolaren Produktes wurden an zwei 8 cm breiten Papierstreifen im KI-System chromatographiert und ergaben 7 mg amorphes Pulver, das papierchromatographisch rein war. Aus dem IR-Spektrum ließ sich jedoch schließen, daß es sich keinesfalls um eine reine Verbindung handelte.

R_F-Wert : in KI 0,78
Farbreaktionen : KEDDE, VISCONTINI, TTC negativ
IR-Befund : Carbonylbande bei 1713 cm^{-1} (in KBr)
$SbCl_3$ blaugrau im UV purpur

Katalytische Reduktion von al-Hydro-digifolein in Methanol.

6 mg Substanz wurden mit 6 mg PtO_2 in 3 ml Methanol 2 Std. hydriert. Nach dem Abfiltrieren konnte beim Eindampfen 6 mg weißer Schaum erhalten werden, der papierchromatographisch ein Hauptprodukt enthielt und nicht weiter bearbeitet wurde.

R_F-Wert : in KI 0,32
Farbreaktionen : KEDDE, VISCONTINI, TTC negativ
TNM positiv
$SbCl_3$ blaugrau im UV purpur

Katalytische Reduktion von al-Hydro-digifolein in Eisessig.

400 mg PtO_2 wurden in 10 ml Eisessig bis zur Beendigung der Wasserstoffaufnahme hydriert. Nachdem 400 mg al-Hydro-digifolein in 10 ml Eisessig zugegeben worden waren, wurde weitere 30 Min. geschüttelt. Anschließend erfolgte Filtrieren, Neutralisieren mit Bicarbonat-Lösung, Trocknen und Eindampfen im Vakuum. Es resultierten 380 mg weißen Schaumes, der im Papierchromatogramm einen deutlichen Hauptfleck zeigte, daneben jedoch mindestens sieben Begleitsubstanzen. Eine Aluminiumoxyd-Chromatographie brachte keine Trennung und es konnten nur 200 mg Substanz zurück gewonnen werden.

Durch eine Verteilung zwischen Chloroform und an mit Formamid imprägnierter Cellulose gelang die Zusammenfassung in zwei Fraktionen, von denen die letzte neben Verunreinigungen das gesamte Hauptprodukt enthielt. 80 mg davon wurden

in 20 ml Äther gelöst und von Flocken abfiltriert. Als der Äther an der Luft bis auf ca. 5 ml abgedampft war, hatten sich feine Nadeln ausgeschieden. Zusatz von Petroläther brachte keine weitere Kristallisation. Ein Umkristallisieren aus anderen Lösungsmitteln gelang nicht und konnte auch aus Äther nur erreicht werden, wenn durch mehrmaliges Abdampfen mit Chloroform-Äther-Gemischen alle Spuren anderer Lösungsmittel entfernt worden waren. Es ergaben sich 30 mg Kristalle, die nach mehrmaligem Umkristallisieren für Analyse und IR-Spektrum benutzt wurden.

Schmp.	:	195-198°
R_F-Werte	:	in KI 0,18 in KII 0,71
Farbreaktionen	:	KEDDE, VISCONTINI negativ
		TNM positiv
		$SbCl_3$ blaugrau im UV purpur
IR-Befund	:	keine Carbonylbande (in KBr)

$C_{28}H_{44}O_8$ (508,6): Ber. C 66,11 H 8,72 %
Gef. 66,11 8,85

Katalytische Reduktion in Dioxan.

1. Bei Zimmertemperatur

Eine Lösung von 5 mg Digifolein in 3 ml Dioxan wurde unter Zusatz von 5 mg PtO_2 2 Std. bei Zimmertemperatur unter Wasserstoff gerührt. Abfiltrieren und Eindampfen ergab einen weißen Schaum, der auf dem Chromatogramm zwei Flecke verursachte mit R_F-Werten in KI von 0,14 und 0,32 in einem geschätzten Mengenverhältnis von 3:1.

2. Bei -5°

Bei dieser Temperatur entstand beim gleichen Versuch etwa ein Verhältnis von gleichen Teilen der beiden Substanzen. Nachhydrierung bei Zimmertemperatur brachte keine Veränderung.

3. Bei -20°

konnte bei Hydrierung in der beschriebenen Art etwas mehr von dem kürzer laufenden Produkt erhalten werden.

Farbreaktionen : KEDDE, VISKONTINI, TTC negativ
TNM (beim Gemisch) positiv

Reduktion von Dihydro-digifolein mit Aluminiumamalgam.

5 mg Dihydro-digifolein wurden, wie angegeben, mit Aluminiumamalgam reduziert und aufgearbeitet. Neben etwas Ausgangsmaterial wies das Papierchromatogramm in KI zwei Flecke mit den R_F-Werten von 0,36 und 0,70 aus. Das Gemisch gab eine positive Tetranitromethan-Reaktion und die anderen Farbteste sind gegenüber dem Ausgangsmaterial ebenfalls nicht verändert.

Andere Reduktionen des Digifoleins.

1. Mit Lithium in Ammoniak

20 mg Digifolein in 15 ml Tetrahydrofuran und 15 ml Äther wurden bei -50° in eine Lösung von 50 mg Lithium in flüssigem Ammoniak eingetropft und weitere 2 Std. gerührt. Es wurden nochmals 50 mg Lithium portionsweise zugegeben unter gleichzeitigem Eintropfen von 30 mg Propanol und noch 1 Std. reagieren lassen. Nach Zusatz von 50 ml Äther wurde der Ammoniak möglichst schnell abgedampft, dann Wasser zugegeben und mit 2 n HCl neutralisiert, ohne bis zur sauren Reaktion zu gehen. Aufarbeitung ergab einen weißen Schaum der papierchromatographisch fast einheitlich war.

R_F-Werte : in KI 0,05 in KII 0,63

Farbreaktionen : KEDDE, VISCONTINI, TTC negativ
TNM positiv
$SbCl_3$ blaugrau im UV purpur

2. Mit $LiAlH_4$

20 mg Digifolien wurden in der eben erforderlichen Menge Tetrahydrofuran gelöst, mit 20 mg $LiAlH_4$ in 15 ml Äther vermischt und 2 Std. unter Rückfluß gerührt. Es wurde Wasser zugesetzt, filtriert, eingedampft und mit Chloroform extrahiert. Der Rückstand war ein weißer Schaum mit einem Haupt- und einem Nebenprodukt.

	Hauptprodukt	Nebenprodukt
R_F-Werte	: in KI 0,09 In KII 0,66	in KI 0,22 in KII 0,74
Farbreaktionen	: KEDDE, VISCONTINI, TTC negativ TNM positiv, $SbCl_3$ graublau im UV purpur	

3. Katalytische Reduktion mit $HClO_4$

Während eine Lösung von 5 mg Digifolein in 20 ml Eisessig unter Zusatz von 2 Tropfen Perchlorsäure eine Stunde lang unverändert blieb, ergab die Hydrierung mit PtO_2 unter den gleichen Bedingungen ein Viel-Komponenten-Gemisch. Das Papierchromatogramm ließ darauf schließen, daß der Zucker bei der Reaktion abgespalten worden war.

Digifologenin-acetonid.

113 mg Digifolein, das durch Auflösen in Chloroform und anschließendes schnelles Abdampfen schaumig erhalten worden war, wurden mit 30 ml Aceton und 150 mg Dowex 50 versetzt und 12 Stunden bei Zimmertemperatur gerührt. Nach dem Absaugen vom Ionenaustauscher und Waschen mit Aceton verblieb ein Rückstand von 128 mg schwach gelben Schaumes. Aus ihm konnte durch Lösen in 5 ml Aceton und Versetzen mit 2 ml Wasser beim langsamen Eindunsten an der Luft in 24 Std. 75 mg gut ausgebildeter, etwas gelblicher Kristalle gewonnen werden. Durch Ausschütteln der acetonischen Lösung mit etwas Tierkohle verschwand die Färbung und der Schmelzpunkt wurde bei zweimaligem Umkristallisieren nur wenig verändert.

Schmp. : 185-196° $[\alpha]_D^{20}$ = - 230° (c=0,867 in Aceton)

Farbreaktionen : KEDDE, TTC, TNM positiv
VISCONTINI negativ
$SbCl_3$ orange bis gelb im UV blauorange

R_F-Werte : in KI 0,94 in CH 0,50

IR-Befund : Carbonylbanden bei 1715 und 1732 cm^{-1}
keine OH-Bande

$C_{24}H_{32}O_5$ (400,5): Ber. C 71,97 H 8,05 %
Gef. 72,06 7,93

Die Mutterlauge des Digifologenin-acetonids zeigte im Papierchromatogramm nach der Vertreibung des Lösungsmittels mit einem Haartrockner unter der kurzwelligen UV-Lampe eine starke Löschung mit einem R_F-Wert von 0,55 in KI, die auf die Reaktionen mit TTC und nach KEDDE positiv ansprach. Nach

dem Besprühen mit $SbCl_3$ und üblichem Trocknen war nur noch eine schwache, bläuliche Fluoreszens an dieser Stelle zu erkennen.

Behandlung von Digifologenin-acetonid mit Dowex 50.

50 mg Digifologenin-acetonid wurden mit 50 mg Dowex 50 in 5 ml Aceton gerührt. Nach vier Std. zeigte sich auf dem Papierchromatogramm in KI eine Löschung bei einem R_F-Wert von 0,5. Sie nahm im Verlauf von zwei Tagen an Intensität zu und reagierte nach KEDDE und TTC im gleichen Maße wie Digifolein. Nach 6 Tagen war immer noch Ausgangsmaterial vorhanden, ohne daß die Löschung sichtbar zugenommen hätte. Es war aber eine weitere Löschung hinzugekommen, die auf dem Papier eine Perjodat-Reaktion gab. Außer dieser waren noch mehrere mit $SbCl_3$ anfärbbare Nebenprodukte entstanden. Eine Probe von 0,2 ml wurde der Lösung entnommen, auf 20 ml verdünnt und dann im UV vermessen. Sie zeigte eine starke selektive Absorption bei 225 mμ. Bei der Aufarbeitung kristallisierten 15 mg Ausgangsmaterial, während von den anderen Verbindungen keine Isolierung möglich war.

Digifolein aus Digifologenin-acetonid.

3 mg Digifologenin-acetonid in 2 ml Aceton und 2 ml Wasser wurden mit 5 mg Dowex 50 vier Stunden gerührt. Danach war im Papierchromatogramm kein Acetonid mehr nachweisbar, während eine neue Verbindung auftrat, bei der es sich zweifellos um das Digifologenin handelte, da sie eine viscontini-positive Reaktion gab.

Digifologenin-acetonid aus Lanafolein.

Es konnte auf die gleiche Weise mit Dowex 50 dargestellt werden, wie es für Digifolein beschrieben wurde.

Einwirkung von Salzsäure auf Digifolein.

30 mg Digifolein wurden in 3 ml Methanol gelöst, mit 6 ml konzentrierter HCl versetzt und 4 Std. stehen gelassen. Der Neutralisation mit Bicarbonatlösung folgte die Ausschüttelung mit Chloroform und die übliche Aufarbeitung. Es verblieb ein gelbliches Öl, das allen Reinigungs- und Kristallisationsver-

suchen widerstand. Die wenigen mg Substanz, die bei der präparativen Papierchromatographie erhalten wurden, ließen keine weitere Bearbeitung zu. Es sah papierchromatographisch so aus, als sei eine einheitliche Substanz entstanden, da ohne Besprühung unter der kurzwelligen UV-Lampe eine Löschung zu erkennen war, und auch nach der Behandlung mit $SbCl_3$ an keiner anderen Stelle eine nennenswerte Fluoreszens auftrat.

R_F-Werte : in KI 0,65
Farbreaktionen : KEDDE, TTC positiv
VISCONTINI negativ
$SbCl_3$ schwach gelb im UV bläulich

Einwirkung von Kalilauge auf Digifolein.

Eine 2 n Lösung von KOH in Methanol-Wasser 1:1 wurde 6 Std. auf 20 mg Digifolein einwirken gelassen, wobei leichte Gelbfärbung eintrat. Es wurde mit Chloroform ausgeschüttelt, dieses neutral gewaschen und aufgearbeitet. Ausgangsmaterial war nicht mehr vorhanden. Es gelang nicht, aus dem erhaltenen Schaum, der sich als überwiegend aus einer Verbindung bestehend erwies, ein sauberes Produkt zu isolieren.

R_F-Werte : in KI 0,10 in KII 0,45
Farbreaktionen : TTC positiv
KEDDE, VISCONTINI negativ
$SbCl_3$ graublau im UV purpur

Einwirkung von Salzsäure auf Digifologenin-acetonid.

Analoge Behandlung von Digifologenin-acetonid mit Salzsäure, wie für Digifolein beschrieben, führte zum gleichen papierchromatographischen Befund.

Einwirkung von Kalilauge auf Digifologenin-acetonid.

5 mg Digifologenin-acetonid wurden in 3 ml 1 n KOH in Methanol gelöst und 30 Std. bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Es wurde mit Chloroform ausgeschüttelt und dann nach üblicher Art aufgearbeitet.

R_F-Werte : in TKI 0,72 in CH 0,50

Farbreaktionen : TTC, KEDDE positiv
VISCONTINI negativ
$SbCl_3$ blaugrau im UV purpur

Einwirkung von Schwefelsäure auf Digifologenin-acetonid.

Aus konzentrierter Schwefelsäure und wasserfreiem Aceton wurde eine 6 n Lösung hergestellt. Davon wurden 2 ml zu einer Lösung von 4 mg Digifologenin-acetonid in 2 ml Aceton gegeben und nach 4 Std. aufgearbeitet. Das Ausgangsmaterial war vollständig umgesetzt und es zeigte sich eine Löschung unter der UV-Lampe.

R_F-Wert : in KI 0,70
Farbreaktionen : TTC, KEDDE positiv
VISCONTINI negativ
$SbCl_3$ uncharakteristisch

Das Rohprodukt wurde zwei Tage in einem Gemisch von gleichen Teilen Aceton und 2 n Schwefelsäure stehen gelassen. Danach waren noch zu etwa gleichen Teilen Ausgangsmaterial und eine Löschung bemerkbar. Deren Daten:

R_F-Wert : in TKI 0,12
Farbreaktionen : TTC, KEDDE und VISCONTINI positiv

Versuche zur Bildung eines Halbacetals.

Die verschiedenen Säurekonzentrationen in wasserfreiem Methanol wurden durch Einleiten abgezählter Bläschen getrockneten HCl-Gases hergestellt. Einwirkung dieser Lösungen bei geringer Wasserstoffionen-Konzentration und kurzer Dauer veränderte Digifolein nicht, während bei höheren Konzentrationen und längerer Reaktionszeit zu viele Produkte entstanden, als daß ein präparativer Ansatz lohnend erschien.

Unter den auf den Papierchromatogrammen erscheinenden Substanzen waren zwei, die eine Löschung unter der kurzwelligen UV-Lampe hervorriefen, und einer, der positiv auf den Perjodat-Test reagierte, obwohl der Zucker sicher nicht abgespalten worden war.

Versuche zur Abspaltung von Wasser aus Digifolein.

Sie wurden nach üblichen Methoden auf folgenden Wegen angestellt: mit Thionylchlorid, Phosphoroxychlorid, Kupfersulfat, Bortrifluorid, über das Mesylat und Tosylat. Alle Reaktionen verliefen so komplex, daß sich eine Beschreibung erübrigt.

Digifolein-acetat.

90 mg Digifolein wurden in einem Gemisch von einem Teil Pyridin und zwei Teilen Essigsäure-anhydrid 4 Std. bei Zimmertemperatur acetyliert. Nach der Aufarbeitung zeigte das Papierchromatogramm des 100 mg wiegenden Schaumes nur noch Spuren von Digifolein. Es hatten sich zwei neue Verbindungen gebildet, die in ungefähr gleicher Intensität auftraten. Eine Chromatographie an Silicagel, bei der erst die Mischung von Benzol mit 20% Essigester eine Eluierung bewirkte, führte zu einer teilweisen Abtrennung des höher acetylierten Digifoleins. Die Versuche zu weiterer Reinigung und Kristallisation waren nicht von Erfolg gekrönt.

R_F-Werte : in TKI 0,58 und 0,91
in CH/B 1:2 0,19 und 0,82

Farbreaktionen : KEDDE und TTC positiv
$SbCl_3$ graublau im UV purpur.

Literaturübersicht

1) R. Tschesche, G. Buschauer
Ann. 603, 59 (1957)

2) C.W. Shoppee
Helv. 27, 426 (1944)

3) G. Lipp
Dissertation, Hamburg 1958

4) G. Buschauer
Dissertation, Hamburg 1957

5) C.W. Shoppee
Helv. 27, 246 (1944)

6) H. Machleidt
Privatmitteilung

7) J. Press, T. Reichstein
Helv. 30, 2127 (1947)

8) R. Tschesche, G. Lipp
Ann. 615, 210 (1958)

9) R.F. Witter, S. Stone
Analytic.Chem. 29, 156 (1957)

10) H.P. Kaufmann
Analysen der Fette und Fettprodukte
Band I, 571 - Springer-Verlag, Berlin
(1958)

11) G. Hesse, W. Geiger und G. Lettenbauer
Ann. 625, 167 (1959)

12) Ch. Tamm
Fortschritte der Chemie Organischer
Naturstoffe Band XIII, 137 (1956)

13) C.W. Shoppee
Helv. 23, 975 (1940)

14) R. Repic, Ch. Tamm
Helv. 40, 639 (1957)

15) A. Hunger, T. Reichstein
Helv. 35, 1073 (1952)

16) W.A. Jacobs, A.M. Collins
J.biol.Chem. 96, 647 (1932)

17) A. Stoll, A. Pereira, J. Renz
Helv. 32, 293 (1949)

18) D. Lawday
Nature 170, 415 (1952)

19) Roger Adams
Organic Reactions IV, 381 (1948)
John Wiley & Sons, Inc. New-York

20) A.Pl. Plattner, A. Serge, O. Ernst
Helv. 30, 1432 (1947)

21) N. Neuss, H.E. Boaz, J.W. Forbes
Am.Soc. 75, 4870 (1953)

22) M. Ishidate, M. Okada, K. Saito
Bull.Soc.pharm.(Japan) 3, 320 (1955)

23) R.S. Cahn
Chem. Soc. 1930, 702

24) G. Canelli, A. Melera, D. Arigoni, O. Jeger
Helv. 40, 2390 (1957)

25) A. Katz, T. Reichstein
Pharm.acta Helv. 19, 231 (1944)

26) H. Kiliani
Ber. 43, 3574 (1910)

27) H. Kiliani
Ber. 46, 667 (1913)

28) H. Kiliani
Ber. 46, 2179 (1913)

29) R. Tschesche, W. Haupt
Ber. 69, 1377 (1936)

30) F. Dolder, Ch. Tamm, T. Reichstein
Helv. 38, 1364 (1955)

31) R. Tschesche, G. Grimmer, F. Neuwald
Ber. 85, 1103 (1952)

R. Tschesche, R. Peters
Ber. 86, 574 (1953)

R. Tschesche
Ber. 70, 1554 (1937)

32) R.P. Martin, Ch. Tamm
Helv. 42, 696 (1959)

33) J.E. Bush, D.A.H. Taylor
Biochem.J. 52, 643 (1952)

34) O. Lüderitz, O. Westphal
Z.Naturforsch. 7b, 548 (1952)

35) M. Viscontini, D. Hoch, P. Karrer
Helv. 38, 643, (1955)

36) R. Tschesche, G. Grimmer, F. Seehofer
Ber. 86, 1235 (1953)

37) F. Kaiser
Ber. 88, 556 (1955)

38) P. Marquart
Dissertation, Hamburg 1961

39) A. Windaus, G. Reverey, A. Schieger
Ber. 58, 1509 (1925)

Lebenslauf

Am 10. Juni 1926 wurde ich, Günther Müller, in Hagen i/W. geboren, wo ich die ersten Klassen der Volksschule besuchte.
1934 verzog ich nach Köln, absolvierte dort die Grundschule und wechselte zum Gymnasium über.
1937 kam ich für drei Jahre in ein Internat in die Schweiz, von wo ich nach Köln zurückkehrte. Bis 1942 konnte ich noch das Gymnasium besuchen, mußte dann aber durch die Gesetzgebung des Dritten Reiches einige Jahre als Hilfsarbeiter eine Tätigkeit annehmen.
Nach dem Kriege holte ich in einem Sonderkursus 1946 das Abitur nach und erlangte damit im S.S. 1947 meine Immatrikulation an der Universität Köln. 1952 konnte ich das Diplomchemiker-Hauptexamen ablegen und fertigte bis 1953 meine Diplomarbeit bei Herrn Professor Dr. K. Alder an.
Es folgte ein fünfjähriger Aufenthalt in Brasilien. Im September 1958 konnte ich bei Herrn Professor Dr. R. Tschesche mit meiner Doktorarbeit beginnen, deren Ausführung bis August 1960 währte.
Meine akademischen Lehrer waren die Herren Alder, Bayer, Fehér, Fink, v. Fragstein, Ganschow, Hacker, Kirchner, Klenk, Knappwost, Otremba, Pohl, Schwarzbach, Stein, Tschesche und Wintgen.